

**UNTERSUCHUNGEN ZUR HEPATOTOXISCHEN WIRKUNG
VON SCHIMMELPILZGIFTEN BEI KÄLBERN
WÄHREND DER MAST UND AUFGZUCHT**

Reinhard Lauschner
München

1975

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie und
Infektions- und Seuchenmedizin der Tiere
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München

Vorst.: Prof.Dr.Dr.hc. A. Mayr
angefertigt unter Leitung von Frau Prof. Dr. B. Gedek

UNTERSUCHUNGEN ZUR HEPATOTOXISCHEN WIRKUNG
VON SCHIMMELPILZGIFTEN BEI KÄLBERN
WÄHREND DER MAST UND AUfZUCHT

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Reinhard Lauschner
München 1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. B. Gedek
Korreferent: Prof. Dr. H. Erbersdobler

Tag der Promotion: 21. Februar 1975

H. + E. Lang
Offsetdruck
8000 München 40
Riesenfeldstr. 82



Inhaltsübersicht

	Seite
1. Einleitung	1
2. Besprechung des Schrifttums	3
2.1. Morphologische Veränderungen an der Leber	6
2.1.1. Aflatoxin B ₁	6
2.1.2. Andere hepatotoxische Schimmelpilzmetaboliten	14
2.2. Beeinflussung des Leberstoffwechsels durch die verschiedenen hepatotoxischen Schimmelpilzgifte	19
3. Eigene Untersuchungen	36
3.1. Chronische Belastungen von Kälbern mit Aflatoxin B ₁ während der Mast	36
3.1.1. Material und Methoden	36
3.1.1.1. Haltung und Fütterung der Tiere	36
3.1.1.2. Gruppeneinteilung und Toxinapplikation	40
3.1.1.3. Hämatologische Untersuchungen	42
3.1.1.4. Chemische Untersuchungen	42
3.1.1.5. Pathologisch-anatomische Untersuchungen	44
3.1.2. Ergebnisse	45
3.1.2.1. Schlachtgewicht und mittlere Tageszunahme der Mastkälber	45

	Seite
3.1.2.2.	Blutstatus 47
3.1.2.3.	Serumenzyme 49
3.1.2.4.	Kupfergehalt der Leber 58
3.1.2.5.	Vitamingehalt von Leber und Serum 59
3.1.2.6.	Pathologische Anatomie 60
3.2.	Chronische Belastung von Kälbern mit den Mykotoxinen Aflatoxin B ₁ , Sterigmatocystin und Diacetoxyscirpenol während der Aufzucht 64
3.2.1.	Material und Methoden 64
3.2.1.1.	Haltung und Fütterung der Tiere 64
3.2.1.2.	Gruppeneinteilung und Toxinapplikation 68
3.2.1.3.	Hämatologische, chemische und pathologisch-anatomische Untersuchungen 71
3.2.2.	Ergebnisse 71
3.2.2.1.	Körpergewicht und mittlere Tageszunahme der Aufzuchtkälber 71
3.2.2.2.	Blutstatus 74
3.2.2.3.	Serumenzyme und Gesamtbilirubin im Serum 76
3.2.2.4.	Kupfergehalt der Leber 90
3.2.2.5.	Vitamin A-Gehalt von Leber und Serum 92
3.2.2.6.	Pathologische Anatomie 93

		Seite
4.	Diskussion	96
5.	Zusammenfassung/Summary	105
6.	Literaturverzeichnis	111
7.	Lebenslauf	131

Schimmelpilze unterschiedlicher Artzugehörigkeit bilden beim Befall von Einzel- oder Mischfuttermitteln Stoffwechselprodukte, die für den tierischen Organismus toxisch sind (GEDEK, 1969). Von der großen Zahl heute bekannter Mykotoxine entsprechen einige hinsichtlich der Giftigkeit für Tiere der Wirkung von Blausäure oder Strychnin (FRANK, 1969). Nach einer Anreicherung im Futter, insbesondere während des mikrobiellen Verderbs, rufen demnach Mengen von einigen ppm dieser Toxine bereits Vergiftungen bei Tieren hervor. Geringere Konzentrationen solcher Schimmelpilzgifte haben sich nach bisherigen Erfahrungen vor allem als hepatotoxisch erwiesen (BUTLER, 1964, 1966, 1970; PURCHASE und THERON, 1968; GOLDBLATT, 1969; GEDEK und HOFMANN, 1970a, 1970b; WOGAN et al., 1971). Innerhalb dieser Gruppe von Schimmelpilzgiften gilt Aflatoxin B₁ nicht nur in bezug auf Toxizität, sondern auch hinsichtlich seiner leberspezifischen Wirkung als unübertroffen (BANES, 1966; BÖSENBERG, 1970a; BUTLER, 1970). Veränderungen an der Leber als Folge einer chronischen Belastung bei Vorliegen subletaler Dosen in Futtermitteln sind demgemäß insbesondere bei der heutigen Form der Massentierhaltung vor allem während der Frühentwöhnung zu erwarten.

Milchersatzstoffe weisen Aflatoxin B₁ oftmals in einer Menge auf, welche mit den analytischen Verfahren gerade noch erfaßbar sind (GEDEK, 1969).

Im Rahmen dieser Arbeit sollte durch gezielte Belastungen von Kälbern während der Mast und Aufzucht mit Aflatoxin B₁ und anderen starken Schimmelpilzgiften geklärt werden:

1. ob im Milchaustauscher und Kälbernährmehl nachgewiesene Aflatoxin B₁-Mengen die Leber heranwachsender Tiere schädigen und
2. ob eventuell diese geringen Toxinkonzentrationen, wenn die Vormagentätigkeit nicht unterdrückt ist, durch die Pansenflora entgiftet werden, ferner
3. ob Toxine mit verwandter chemischer Struktur oder ähnlicher Wirkung auf die Leber in subletaler Dosierung gleichartige Effekte hervorrufen wie das Aflatoxin B₁.

Eine im Stall gehaltene Herde von eineinhalb bis zwei Jahre alten Hereford-Friesen-Ochsen hatte von Dezember 1960 bis April 1961 mit dem Futter etwa 900 g brasilianisches Erdnußmehl pro Tag und Tier erhalten. Das Mehl wurde sehr ungern aufgenommen und beiseitegeschoben. Ein Teil des Erdnußmehls blieb ständig in den Krippen. Im März 1961 wurde bei den Tieren eine auffallende Neigung, sich zu scheuern, festgestellt. In den vorausgegangenen Wochen schienen sie bereits in der Entwicklung stark beeinträchtigt.

Bei den tierärztlichen Untersuchungen Anfang April 1961 befanden sich außerdem die meisten Tiere in einem schlechten Ernährungszustand. Um diese Zeit erkrankte ein Ochse akut und zeigte unter anderem einen leichten Mastdarmvorfall. Das Tier mußte getötet werden. Nach dem Sektionsbefund, welcher Ödematisierung der Labmagenschleimhaut sowie eine hellbraune Verfärbung und Vergrößerung der Leber beinhaltete, lag die Vermutung nahe, daß es sich um eine Erdnußmehlvergiftung handeln könnte.

Trotz Absetzen des Erdnußmehls mußten noch weitere Tiere getötet werden. Die restlichen Tiere wurden auf eine gute Weide gebracht, zeigten aber nur geringe Wachstumsfreudigkeit und eine starke Verzögerung des Haarwechsels. Die diesen Tieren entnommenen Leberbiopsieproben wiesen hellgelbe Verfärbungen auf und waren stark mit Bindegewebe

durchsetzt. Die Tiere wurden in den folgenden Monaten geschlachtet; das letzte sechs Monate nach Absetzen der Erdnußmehlfütterung. Zu diesem Zeitpunkt war der Ernährungszustand meist gut. Die Rinder waren jedoch ungewöhnlich klein geblieben (CLEGG und BRYSON, 1962).

LOOSMORE und MARKSON (1961) berichteten ein Jahr zuvor über ähnliche Vergiftungserscheinungen bei Rindern nach Verfütterung brasilianischen Erdnußmehls. Sie beobachteten dabei diffuse Leberfibrosen und Riesenzellbildungen in der Leber. Den Grund für die Toxizität des Erdnußmehls sahen SARGEANT und Mitarbeiter (1961a und b) im Befall der Erdnüsse mit dem aflatoxinproduzierenden Schimmelpilz *Aspergillus flavus*.

Bei experimentellen Untersuchungen mit Rindern sowie Feldversuchen wurden sehr ähnliche Veränderungen von unterschiedlicher Intensität beobachtet (LOOSMORE und MARKSON, 1961; ALLCROFT und LEWIS, 1963; CALVET et.al., 1966, HURTER, 1966; GARRET et.al., 1968; LYNCH et.al., 1970, 1971 und 1972). Als erste klinische Symptome wurden Inappetenz und Gewichtsverluste festgestellt. Abgesehen von der allgemein bestehenden geringen Wachstumsfreudigkeit traten jeweils einige Tage vor dem Verenden der Tiere ausgeprägte klinische Erscheinungen, wie schwerer Tenesmus und Festliegen auf. Außerdem zeigte sich, daß Kälber und Jungtiere wesentlich empfindlicher reagieren gegenüber aflatoxinhaltigem Futter als erwachsene Rinder (ALLCROFT, 1965).

Die Parameter Gewichtszunahme und Futterverwertung standen unter anderem im Mittelpunkt einer Untersuchung von GARRET und Mitarbeitern (1968) an sechs bis acht Monate alten Jungbulln, denen Baumwollsaatmehl verfüttert wurde, das von 0 bis 100 ppb abgestufte Mengen Aflatoxin B₁ enthielt. Der Versuch erstreckte sich über einen Zeitraum von 133 bis 196 Tage. Die mittleren Gewichtszunahmen waren bei einer Aflatoxin B₁-Konzentration von 700 ppb an signifikant erniedrigt. Die Futterverwertung sank in dem Maße, in dem der Gehalt an Aflatoxin B₁ anstieg. Weiterhin nahmen ab 700 ppb Aflatoxin B₁ im Futter die Organgewichte von Leber und Niere signifikant zu. Konzentrationen von 100 und 300 ppb Aflatoxin B₁ im Futter hatten keinen Einfluß auf Gewichtszunahme, Futterverwertung und Organgewicht. Pathologisch-anatomisch zeigten die Lebern von drei der insgesamt acht Jungbulln, denen 1000 ppb Aflatoxin B₁ appliziert worden war und zwei von den zehn Tieren, die 700 ppb erhielten, eine Vergrößerung und fahlgraue Verfärbung der Leber, wobei eine fibröse bis gummiartige Beschaffenheit des Lebergewebes auffiel.

Tiefgreifende Veränderungen sind vor allem in der Leber zu sehen. Eine Vielzahl von Autoren hat sich deshalb mit der Morphologie dieser Leberschäden bei Nutztieren und insbesondere bei Laboratoriumstieren beschäftigt.

2.1. Morphologische Veränderungen an der Leber
durch

2.1.1. Aflatoxin B₁

Die durch Aflatoxin B₁ hervorgerufenen Leberveränderungen beschrieb BUTLER (1964) im einzelnen anhand von Ergebnissen, die er bei Rattenversuchen erhalten hatte. Nach einer einmaligen Verabreichung einer LD₅₀-Dosis des Aflatoxin B₁ per os an Ratten, setzten die histologisch sichtbaren Veränderungen in der Leber relativ langsam ein. Nach 24 Stunden konnte bei diesem Experiment eine Abnahme der Basophilie des Zytoplasmas von Leberzellen im peripheren Läppchenbereich mit vereinzelt pyknotischen Zellkernen festgestellt werden. 36 bis 48 Stunden danach waren alle Leberläppchen an der Peripherie deutlich mit nekrotischen Zonen durchsetzt. In den unmittelbar an diese Bereiche angrenzenden Leberzellen wurde eine zunehmende Verfettung sichtbar, die bei weiblichen Tieren noch extensiver ausgeprägt war. Vier Tage nach Versuchsbeginn lag im Bereich dieser Nekroseherde eine ausgeprägte Gallengangsproliferation vor, die sich vier Wochen nach der Toxinapplikation progressiv zwischen und in die einzelnen Lobuli ausbreitete. Bis zu diesem Zeitpunkt waren regenerative Vorgänge in den Parenchymzellen, wie sie vergleichsweise bei Tetrachlorkohlenstoffvergiftungen vorgekommen sind (SUTTON und SPURGEON, 1966),

nicht zu beobachten. Die Regenerierungsphase erstreckte sich über mehrere Wochen. Der Grund hierfür wurde in der Hemmung der Mitoserate der Parenchymzellen nach Aflatoxin B₁-Gabe gesehen (FRAYSSINET et.al., 1964; ROGERS und NEWBERNE, 1967). In den Parenchymzellen hatte sich vielmehr zu diesem Zeitpunkt eine Veränderung dahingehend vollzogen, daß es zur Ausbildung von hyperchromatischen Riesenzellen kam, die in der Literatur teilweise immer noch irreführend mit Megalozyten bezeichnet worden sind.

BÖSENBERG (1970a) injizierte Ratten ein Aflatoxin B₁-Kristall-Suspension in einer Dosis von 500 mcg/kg Körpergewicht intravenös in die Schwanzvene und fand die erwarteten, oben beschriebenen Veränderungen der Leber nicht. Die Nekrosen waren nicht regelmäßig auf die Nähe der periportaln Felder beschränkt, sondern oft gleichmäßig über die ganze Leber verteilt. Nur einige Tiere zeigten Gallengangshyperplasien.

Nach fünfmaliger subkutaner Injektion von 10 mcg/kg Körpergewicht in täglichen Abständen wurden Ratten am siebten Tag getötet. Die Leberveränderungen waren geringgradig deutlicher zu erkennen als im vorher beschriebenen Versuch, trotz kleiner Toxindosen. Die Zellschädigungen in der Nähe der periportaln Felder waren stärker ausgeprägt. Gallengangshyperplasien wurden nur bei einem Viertel der Tiere gesehen. Wurden tägliche Injektionen über

einen längeren Zeitraum vorgenommen, so waren auch die Veränderungen stärker ausgeprägt. Jedoch war dabei deutlich geworden, daß sich die Nekrosen stets auf den gesamten Bereich des Leberparenchyms erstreckten, und daß der Beginn der Veränderung im periportalen Bereich nicht mehr erkennbar war. Die Zurückbildung dieser Veränderungen war zwei Monate nach der letzten Injektion zu beobachten. Solide Lebertumoren konnten auch nach weiteren zwei Monaten nicht nachgewiesen werden. Diese zum Teil gegensätzlichen Ergebnisse im Vergleich zum angloamerikanischen Schrifttum führte BÖSENBERG (1970a) darauf zurück, daß zahlreiche Autoren nicht mit dem gleichen Gift, sondern mit Aflatoxinen verschiedenen Ursprungs arbeiteten oder verunreinigte Gifte als Ausgangsmaterial verwendeten und somit auch unterschiedliche Ergebnisse erzielten. Der pathologische Befund der Gallengangsproliferation gilt als so typisch, daß er als Diagnostikum für den Aflatoxin B₁-Gehalt im Futter im Eintagsentenküchentest herangezogen wird (SARGEANT, et.al., 1961a und b; CARNAGHAN et.al., 1963; ARMBRECHT und FITZHUGH, 1964; WOGAN, 1965).

Im Gegensatz zu den peripherolobulären Lebernekrosen, wie sie bei der Ratte und Ente (BUTLER, 1964 und 1969) gefunden worden sind, zeigte das Meerschweinchen nach Aflatoxin B₁-Applikation eine zentrolobuläre Lebernekrose (BUTLER, 1964).

Die Entwicklung von Gallengangsproliferationen trat hierbei erst später auf. Die Nekrosen in der Leber entwickelten sich im Gegensatz zur Ratte rasch innerhalb 24 Stunden und waren am ausgeprägtesten nach 72 Stunden, wobei zugleich dieser Bereich von Makrophagen infiltriert war. Fettige Degeneration der Leberzellen trat vornehmlich in den periportal Zonen auf. Große, hyperchromatische Riesenzellen, wie sie bei der Ratte gefunden wurden, waren beim Meerschweinchen bislang nicht beobachtet worden (BUTLER, 1969). Durch orale Applikation von 6,25 mcg, 12,5 mcg, 25,0 mcg und 50,0 mcg Aflatoxin B₁ pro Tag über acht Wochen bei Untersuchungen von GEDEK und HOFMANN (1970b) entstanden bei Meerschweinchen chronische Leberveränderungen. In Abhängigkeit von der Höhe der Toxindosis war das Bild der Präzirrrose bis zu dem der fortgeschrittenen Zirrhose zu sehen. Bei der Gruppe mit der Höchstdosierung konnte makroskopisch bereits eine Granuläratrophie der Leber mit ihren Folgezuständen, wie Stauungen im Wurzelgebiet mit Ascites und geringgradigem Ikterus festgestellt werden.

Beim Kalb zeigte sich nach der Verabreichung von Aflatoxin B₁ ebenfalls das Bild der zentrolobulären Lebernekrose. 1963 beschrieben ALLCROFT und LEWIS einen Versuch mit aflatoxinhaltigem Erdnußmehl, das Kühen, Kalbinnen und fünf bis acht Wochen alten Kälbern verfüttert worden ist. Die täglichen Futterrationen enthielten 18% des stark toxischen brasilianischen Erdnußmehls, das für

Enten bereits bei 1,5 mg/Tier tödlich war. Der Versuch erstreckte sich über 25 Wochen. Am Ende des ersten Monats wurden an Leberbiopsieproben bei den Kälbern geringgradige Gallengangshyperplasien beschrieben, die nach dem zweiten und dritten Monat stärker ausgeprägt waren, wobei gleichzeitig zentrolobuläre Leberzellendegenerationen auftraten. Am Ende des Versuchs hatten sich zentrolobuläre Lebernekrosen entwickelt, vergesellschaftet mit einer deutlich ausgeprägten Gallengangsproliferation und einem Verschuß der Zentralvenen in den nekrotischen Bezirken der Leber. Die Venenlumina waren mit einer kollagenen Masse angefüllt, die offensichtlich aus einer Verdickung der Venenintima heraus entstand. Dieser Venenverschluß nach Aflatoxinbelastung ist nur bei dieser Tierart beobachtet worden (HILL, 1963).

LYNCH et al. (1970) verfütterten Aflatoxin B₁ kontaminiertes Futter mit einer Toxinkonzentration von 0,008 bis 0,08 mg/kg Körpergewicht täglich an junge Saugkälber über einen Zeitraum von sechs Wochen. Histologisch lag wiederum das Bild der Gallengangshyperplasie sowie einer Ödematisierung und Hyperplasie der Wände der Zentralvenen in der Leber vor. Fettige Degeneration der Leberzellen, Dissoziation der Leberläppchen sowie ein auffallender Glykogenschwund in den Leberzellen und eine Zubildung intralobulären Bindegewebes waren die weiteren Befunde. Bei Konzentrationen von 0,02 bis 0,08 mg/kg Körpergewicht war eine

deutliche Zunahme der degenerativen Verfettung sowie eine korrespondierende Abnahme des Glykogengehaltes im Zytoplasma zu verzeichnen. Die Konzentrationen von 0,008 bis 0,02 mg Aflatoxin B₁ pro kg Körpergewicht erzeugten dagegen keine nachweisbaren Veränderungen.

Dieselben Verfasser beschrieben 1971 die Wirkung oral applizierter, von 0,02 bis 0,1 mg/kg Körpergewicht abgestufter Aflatoxinmengen an Saugkälbern in einem 12-Wochen-Versuch. Das Aflatoxin B₁ wurde in Pulverform in Gelatinekapseln gefüllt und auf diese Weise oral verabreicht. Neben Gallengangsproliferationen waren zudem Fibroblastenproliferationen, Erweiterungen intralobulärer Lymphgefäße, perivaskuläre Ödeme und Ödembildungen im Bereich des Gallenblasenhalses zu sehen. Der Schweregrad der Veränderungen war dosisabhängig und diese traten zuerst bei der Konzentration von 0,04 mg/kg Körpergewicht auf. Ein geringgradiger Glykogenverlust war ab einer Dosis von 0,06 mg/kg erkennbar gewesen. Bei 0,08 bis 0,1 mg/kg Körpergewicht trat der Glykogenschwund deutlicher hervor, lediglich in einzelnen sich regenerierenden Leberzellen waren Glykogenschollen zu finden. Im allgemeinen erschienen die Veränderungen nach Applikation von reinem Aflatoxin B₁ deutlicher ausgeprägt zu sein als von Aflatoxin B₁ kontaminiertem Futter. Der Verlust an Glykogen in der Leber ist ein Parameter für den Grad der Belastung dieses Organs. Nach

Aflatoxin B₁-Applikation trat ein Glykogenschwund auf, der um so stärker war, je höher die Toxinkonzentration gewählt wurde (LYNCH et.al., 1971).

Die destruktive Wirkung von Aflatoxinen auf die Leber beim Kalb läßt sich also folgendermaßen umreißen:

Im Gegensatz zu anderen Säugetierspezies stehen beim Kalb Gallengangsproliferationen im Vordergrund. Ihr schließen sich die degenerativen Veränderungen der Leberzellen selbst an, die in der fettigen Degeneration der Leberzellen und in einer Glykogenverarmung des Zytoplasmas ihren Ausdruck finden. Bei Bestehenbleiben der Noxe auf die Leber entwickelt sich die Lebernekrose, die, wie bereits erwähnt, beim Kalb zentrolobulär lokalisiert ist. Als eine Besonderheit bei dieser Tierart ist der Verschuß der Zentralvenen in der Leber anzusprechen. Dieser Prozeß beginnt mit einer Verdickung und Ödematisierung der Venenintima und endet mit dem völligen Verschuß des Venenlumens mit einer kollagenen Masse. Je länger nun das Gift auf die Leber einwirkt, desto stärker ist die Zubildung an Bindegewebe inter- und intralobulär. Wie ALLCROFT und LEWIS (1963) gezeigt haben, kommt es unter anderem zu schweren Leberfibrosen. Die nekrotischen Prozesse werden in den Hintergrund gedrängt, vor allem fällt eine Veränderung der Leberparenchymzellen auf, wobei die Zelle selbst und ihr Kern an Größe zunehmen.

Diese Riesenzellen scheinen am Anfang der malignen Entartung zu stehen (BUTLER, 1964). Tumorbildungen in der Leber, wie Hepatome und Cholangiome nach oraler bzw. intraperitonealer Applikation von Aflatoxin B₁ beschrieben u.a. bei der Ratte LANCASTER et al. 1961; LE BRETON et al. 1962; SALMON und NEWBERNE 1963; BARNES und BUTLER 1964; BUTLER und BARNES 1966; NEWBERNE et al. 1964; WOGAN 1966; SCHOENTAL 1967; PITOUT et al. 1970 und ROGERS et al. 1971; bei der Ente CARNAGHAN 1965; LANCASTER, 1968; bei Forellen ASHLEY et al. 1965; SINNHUBER et al. 1965 und bei Meerschweinchen BARNES, 1967. Die Entwicklung von Tumoren in der Leber ist nach BÖSENBERG (1970b) abhängig von der Dosis sowie von der Art der Applikation.

GOPALAN et al. (1972) fand bei einem männlichen Rhesus-Affen nach oraler Applikation von einem Gemisch aus Aflatoxin B₁, B₂, G₁ und G₂, angefangen mit 50 mcg und gesteigert bis 200 mcg am Ende des ersten Jahres, über eine Gesamtzeit von fünfeinhalb Jahren, ein hepatocelluläres Carcinom mit mononukleären und vielkernigen neoplastischen Riesenzellen.

2.1.2. Andere hepatotoxische Schimmelpilzmetaboliten

Die akute und chronische Toxizität des Schimmelpilzgiftes Rubratoxin B untersuchten WOGAN et al., (1971a) bei Ratten, Mäusen, Meerschweinchen, Katzen, Hunden und Hühnern. Dabei konnten zwei wichtige Kriterien für die Toxizität dieses Mykotoxins festgestellt werden. Einmal erwies sich die Applikationsart als entscheidend für die Höhe der LD₅₀. Bei oraler Verabreichung lagen die Werte z.B. für Ratten zwischen 400 und 450 mg/kg Körpergewicht, während die LD₅₀ bei intraperitonealer Injektion 0,35 mg/kg Körpergewicht ausmachte. Zum anderen hatten die Lösungsmittel einen Einfluß auf die Höhe der LD₅₀. Rubratoxin B in DMSO (Dimethylsulfoxyd) gelöst, war z.B. für Mäuse um das zehnfache toxischer als wenn es in Propylenglykol gelöst appliziert wurde. Ratten, die aufgrund der Toxineinwirkung starben, zeigten histopathologisch hämorrhagische Nekrosen an Leber und Nieren im Gegensatz zu den Tieren, die diese Versuchsreihe überlebten und die histopathologisch kaum Veränderungen in diesen oder anderen Organen zeigten. Außerdem konnte im chronischen Belastungsversuch kein neoplastischer sowie carcinogener Effekt des Rubratoxin B bei Ratten nachgewiesen werden.

Die gleichen Beobachtungen machten EDWARDS und WOGAN (1968), als sie Ratten 60 Wochen lang dreimal pro Woche oral 5 bzw. 10 mg/kg Körper-

gewicht Rubratoxin B verabreichten. Hierbei kam es zur Entwicklung chronischer Leberschäden. Neoplastische Veränderungen lagen selbst bis zur 87. Versuchswoche nicht vor.

Auf einen Synergismus zwischen Rubratoxin B und Aflatoxin B₁ machten EDWARDS und WOGAN (1968) aufmerksam. Eine gleichzeitige Verfütterung dieser beiden Toxine an Ratten führte zu Leberschäden, deren Ausmaß wesentlich größer war als nach Verabreichung jedes Toxins für sich allein in der entsprechenden Dosierung.

PURCHASE und VAN DER WATT (1969) gelang es mit der LD₅₀ des Mykotoxins Sterigmatocystin bei der Ratte Nekrosen in Leber und Niere zu erzeugen. Dabei fiel auf, daß die Lokalisation der Lebernekrosen von der Art der Applikation abhing. So traten nach oraler Verabreichung dieses Toxins zentrolobuläre, nach intraperitonealer Injektion periportale Lebernekrosen auf.

Sterigmatocystin, das strukturell mit dem Aflatoxin B₁ Ähnlichkeit aufweist, hatte sich gegenüber Ratten ebenfalls als carcinogen (DICKENS et al., 1964) erwiesen.

PURCHASE und VAN DER WATT (1968) zeigten bei Wistar-Ratten hepatocarcinogene Eigenschaften des Sterigmatocystins auf. Bereits 1967 wiesen PURCHASE und NEL nach, daß nach oraler Applikation von Aflatoxin B₁ an Ratten in einer Konzentration von 105 mcg pro

Tier und Woche innerhalb von 18 Monaten Hepatome hervorgerufen wurden, und somit konnte indirekt der Nachweis geführt werden, daß Aflatoxin B₁ bei oraler Verabreichung zehnmal stärker carcinogen wirkt als Sterigmatocystin. Die carcinogene Wirkung des Sterigmatocystins im Vergleich zum Aflatoxin B₁ war nach subkutaner Injektion zweihundertmal geringer, um an der Injektionsstelle Sarkome hervorzurufen (HOLZAPFEL et.al., 1966).

Ein weiteres Schimmelpilzgift, das Ochratoxin A führt zu diffuser hyaliner Degeneration der Rattenleberzellen und herdförmigen Nekrosen bei einer Dosis von nur 100 mcg Toxin pro Tier. Die gleiche Toxinmenge bewirkte bei Eintagsentenküken eine fettige Infiltration der Leberparenchymzellen. Nach diesen Untersuchungen von PURCHASE und THERON (1968) war der dominierende toxische Effekt nicht in der Leber, sondern in der Niere zu sehen. PECKHAM et.al. (1971) konnten dies an Versuchen mit Hühnern, denen Ochratoxin A und B in Konzentrationen von je 0,1 bis 100 mcg pro Tier und Tag verabreicht wurden, bestätigen. Jedes Tier zeigte das Vorhandensein einer akuten Nephrose, dagegen traten Leberschädigungen nicht bei allen Hühnern auf. Weiterhin zeigte das hier zum ersten Mal getestete Ochratoxin B, daß es nahezu die gleiche Wirkung wie Ochratoxin A besitzt. Im Vergleich zu dem nach Aflatoxin B₁-Applikation aufgetretenen Glykogenschwund im Zytoplasma der Leberzellen, bewirkte Ochratoxin A dagegen nach Beobachtungen

von PITOUT (1970) eine Glykogenzunahme in den Leberzellen. Elektronenmikroskopisch zeigte sich dabei nahezu das gleiche Bild wie bei der erblichen Glykogenspeicherkrankheit des Menschen. In vitro Untersuchungen ergaben Hemmungen innerhalb des Phosphorylase-Enzym-Systems durch Ochratoxin A. PURCHASE und NEL (1967) stellten im völligen Gegensatz dazu ein Absinken des Glykogengehaltes in der Leber von Ratten fest. Dieses Ergebnis wurde von SUZUKI und SATOH (1973) bestätigt. Ochratoxin A scheint nach Untersuchungen von PURCHASE und VAN DER WATT (1971) im Gegensatz zu Aflatoxin B₁ nach subkutaner Injektion bei Ratten keine Sarkombildungen hervorzurufen. Auch nach oraler Applikation an Ratten mit einer Dosis von 100 bzw. 300 mcg Ochratoxin A pro Tier über einen Zeitraum von 50 Wochen, konnten keine Carcinome gefunden werden. VAN WALBEEK und Mitarbeiter (1971) machten aber auf die Akkumulation von Ochratoxin A in Leber und Niere aufmerksam, was bei längerer Toxinaufnahme nicht ohne Bedeutung sein dürfte.

Das Fusarientoxin Diacetoxyscirpenol erwies sich nach Applikation an Meerschweinchen ab einer Konzentration von 50 mcg pro Tier ebenfalls als hepatotoxisch. Kern- und Plasmadegenerationen sowie kleintropfige Verfettung bestimmten das histologische Bild (GEDEK und HOFMANN, 1970a).

Ratten, denen auch das als Cytostaticum bekannte Diacetoxyscirpenol verabreicht worden war, nahmen an Gewicht ab, zeigten Haematurie und Diarrhoe. Bei der Sektion dieser Tiere konnten neben anderen Erscheinungen Veränderungen der Leber diagnostiziert werden, wie Gewichtszunahme dieses Organs, unregelmäßige Kerngrößen der Leberzellen, Herdnekrosen und Gallengangsproliferationen. Bei der Blutuntersuchung dieser Tiere fiel der abgesunkene SGPT-Wert (Serum-Glutamin-Pyruvophosphat-Transaminase) auf, während die Daten für Blutgerinnung und Blutzucker im Normalbereich blieben.

Ein anschließender Versuch mit Hunden zeigte ein ähnliches klinisches Bild sowie Vergrößerung der Leberzellen im histologischen Schnittpräparat.

Die bestimmten Werte für Blutzucker, SGPT, alkalische Serumphosphatase u.a. waren jedoch als normal anzusehen.

Die Ergebnisse von Versuchen mit Rhesusaffen gleichen den oben geschilderten Resultaten (STÄHELIN et al., 1968).

GEDEK und HOFMANN (1970a) fanden nach akuten Belastungsversuchen innerhalb von 24 Stunden bei Meerschweinchen zentrolobuläre Lebernekrosen nach oraler Verabreichung abgestufter Mengen von den Mykotoxinen Aflatoxin B₁, B₂, G₁ und G₂, Diacetoxyscirpenol sowie Rubratoxin B und nahmen die akuten nekrotischen Leberveränderungen als Kriterium für die absolute Toxizität dieser Substanzen

und stellten folgende Toxizitätsverhältnisse für diese Tierart auf:

$B_1 : B_2 : G_1 : G_2 : \text{Diacetoxyscirpenol} : \text{Rubratoxin B}$
wie 1 : 16 : 4 : 128 : 4 : 128.

2.2. Beeinflussung des Leberstoffwechsels durch die verschiedenen hepatotoxischen Schimmelpilzgifte

Neben den morphologisch nachweisbaren Veränderungen untersuchten zahlreiche Autoren biochemische Vorgänge, die innerhalb des Leber-Zellstoffwechsels nach Aflatoxin-Applikation ablaufen (ANNAU et al., 1964; LAFARGE et al., 1965; BROWN und ABRAMS, 1965; CARNAGHAN et al., 1966). Ein außerordentlich wichtiges Ergebnis lag darin, daß Aflatoxin B_1 unter in vivo Bedingungen in der Rattenleber die DNS-Synthese zu hemmen vermag. (FRAYSSINET et al., 1964; de RECONDO et al., 1965, 1966). Weiterhin zeigte sich eine Verminderung der RNS-Synthese im Zellkern, die der Hemmung der RNS-Polymerase-Aktivität durch das Aflatoxin B_1 zugesprochen wird (GELBOIN et al., 1966). Nach subletalen Dosen von Aflatoxin B_1 trat dieser Effekt bei Ratten innerhalb von 15 Minuten auf und hielt nahezu 12 Stunden an. FRIEDMAN und WOGAN (1967) erzielten mit einer höheren Dosis eine durch Aflatoxin B_1 bewirkte RNS-Polymerasehemmung über mehrere Tage hinweg. Aufgrund der heutigen Kenntnisse über den Mechanismus der Proteinbiosynthese über den Weg der Gen-Transcription, wobei die

messenger-RNS an einem Strang der DNS gebildet wird, vom Kern in das Zytoplasma gelangt und an den Ribosomen die Translation oder Übersetzung der im Basencode verankerten genetischen Information in die jeweilige Aminosäuresequenz durch die Transfer-RNS erfolgt (KARLSON, 1967), führen die durch Aflatoxin B₁ bedingten Veränderungen bei der DNS-abhängigen RNS-Synthese zu einer Veränderung in der Proteinbiosynthese. So bedingt eine verminderte RNS-Synthese einen signifikanten und ständig sich erhöhenden Mangel an zytoplasmatischer RNS und führt zu einer polysomalen Disaggregation (WOGAN, 1968). Paradoxerweise wird durch Aflatoxin B₁ die Synthese spezifischer Proteine, induzierbare Enzyme, gehemmt, wohingegen die Gesamtproteinsynthese in der Leber nicht sonderlich beeinflußt wird (WOGAN, 1968). So bewiesen CLIFFORD und REES (1966a+b und 1967), daß Aflatoxin B₁ die normalerweise einsetzende Induktion der Tryptophanpyrrolase in der Leber nach Cortisonapplikation bei der Ratte unterbindet. Die Ergebnisse zahlreicher Untersuchungen in dieser Richtung (WOGAN und FRIEDMAN, 1965; FRIEDMAN und WOGAN, 1966; PONG und WOGAN, 1968) lassen den Schluß zu, daß das Aflatoxin B₁ in vivo eine Unterdrückung der Synthese spezifischer Leberproteine durch seine Störung im RNS-Stoffwechsel nach sich zieht (WOGAN, 1968). In vitro bewirkte Aflatoxin B₁ dagegen eine Hemmung der Gesamtproteinsynthese, wie SMITH (1963) bei Untersuchungen über den Einbau von C¹⁴-markiertem Leucin in Gegenwart von Aflatoxin B₁ beobachtete. Im Gegensatz dazu kann-

ten SHANK und WOGAN (1965) keinen hemmenden Effekt dieses Mykotoxins bei dem Einbau von C^{14} -markiertem Leucin in das Gesamtprotein der Rattenleber unter in vivo Bedingungen erkennen, obwohl den Tieren die LD_{50} von Aflatoxin B_1 appliziert worden war. Interessanterweise fand RAO (1971) nach Verabreichung von 2 mg Aflatoxin B_1 pro kg Körpergewicht an Macaca-Affen eine Hemmung der Gesamtproteinsynthese in der Leber in vivo um 50% bereits dreieinhalb Stunden nach der Applikation. Dieses unterschiedliche Verhalten von Aflatoxin B_1 in vivo in der Rattenleber einerseits und in der Affenleber andererseits, könnte nach RAO auf den Speziesunterschied zurückgeführt werden. Außerdem wurden bei diesen Untersuchungen eine deutliche Disaggregation der Polysomen in den Leberzellen der Affen festgestellt.

Mit der Frage, ob die Hauptwirkung des Toxins einzig und allein in einer Störung des RNS-Stoffwechsels zu sehen ist, oder ob zusätzlich eine spezifische Wirkung an den Polysomen vorliegt, und wenn dem so ist, an welcher Stufe der Translation diese Wirkung einsetzt, beschäftigten sich SARASIN und MOULÉ (1973). Männlichen Wistar-Ratten wurden intraperitoneal je 1 mg/kg Körpergewicht Aflatoxin B_1 injiziert. Dabei zeigte sich, daß Aflatoxin B_1 in vivo innerhalb der ersten sieben Stunden nach der Injektion zuerst an den Polysomen angreift, diese qualitativ und quantitativ verändert und so die Protein-Synthese hauptsächlich durch die Schwächung des Transcriptionsmechanismus durch das Toxin bedingt.

Bei der Suche nach dem zur Tumorbildung führenden Wirkungsmechanismus von Aflatoxin B₁ im Rahmen des DNS- und RNS-Stoffwechsels sowie der Protein-Synthese, erhielt die saure nukleare Desoxyribonuklease (DNS-ase) besondere Bedeutung, da diesem Enzym der Anstoß zur reparativen Replikation von defekten Desoxyribonukleinsäuren zukommen soll, (BRODY, 1958; HOWARD-FLANDERS, 1968; BURT und BRENT, 1971; SCHJELDERUP et al, 1972). SCHABORT (1969), ROBERTS und WARWICK (1966) und ROBERTS (1969) konnten nachweisen, daß Aflatoxin B₁ wie auch andere carcinogene Substanzen mit der DNS eine Komplexbildung eingeht, was einen DNS-Defekt darstellt. Auf einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten dieser DNS-Defekte in Form chromosomaler Aberrationen und einer Aktivitätsveränderung der sauren DNS-ase wiesen ALLISON und PATON (1965, 1969) hin. Einen auffallenden Anstieg der Aktivität dieser sauren DNS-ase sahen PITOUT et al. (1971) nach täglicher oraler Applikation von Aflatoxin B₁ in einer Konzentration von 1,4 mg/kg Körpergewicht an Ratten über einen Zeitraum von 30 Tagen in der Rattenleber.

Nach Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus der sauren DNS-ase stellte sich ein enger Zusammenhang zwischen der Aktivität der sauren DNS-ase, der Mitoserate und der Geschwindigkeit bei der Vermehrung von Leber-, Milz-, Nieren- und Gehirnzellen bei Ratten heraus (LEHMAN, 1967; CORDONNIER und BERNARDI, 1968; HOWARD-FLANDERS, 1968). Diese von PITOUT et al. (1971)

festgestellte abnorme Aktivitätserhöhung der sauren DNS-ase wurde dahingehend interpretiert, daß dadurch eine chromosomale Aberration hervorgerufen werden könnte und irreversible Veränderungen der genetischen Information bedingen würde, was schließlich zur Bildung von neoplastischen Zellen führen könnte.

PITOUT und Mitarbeiter (1973) verglichen die Wirkungen von Aflatoxin B₁ und zwei weiteren carcinogenen Substanzen mit dem sehr stark hepatocarcinogenen 3'-methyl-N,N-di-methylaminoazobenzen (3'-MeDAB) und dem schwach hepatocarcinogenen 2-methyl-N,N-dimethylaminoazobenzen (2-MeDAB) auf die Aktivität der sauren DNS-ase in der Ratten- und Mäuseleber. Die Ratten erhielten einmal wöchentlich im Futter ein Fünftel der LD₅₀ von Aflatoxin B₁, den Mäusen wurden in dem gleichen Zeitabstand 2 mg/kg Körpergewicht Aflatoxin B₁ im Futter verabreicht. 3'-MeDAB und 2-MeDAB wurden in einer Konzentration von 0,64g/kg Futter jeweils den Ratten und Mäusen appliziert. Die Versuchsdauer belief sich auf ca. 400 Tage. Aflatoxin B₁ und 3'-MeDAB bewirkten dabei einen raschen Anstieg der spezifischen Aktivität der sauren DNS-ase in den Rattenlebern. Nach mehreren Monaten wurden deutlich erhöhte Werte gefunden, die dann plötzlich auf die Normalwerte zurückgingen, und zwar unmittelbar vor der malignen Entartung der Leberzellen. Histologisch erkennbare, toxische Fröhschäden in der

Leber schienen zeitlich mit dem mäßigen Ansteigen der spezifischen Aktivität zusammenzufallen. Das Auftreten von regenerativen Leberzellkernen war begleitet von einem deutlichen und gleichmäßigen Aktivitätsanstieg. Nach 360 Tagen hatten alle behandelten Ratten hepatozelluläre Carcinome. In diesem Zusammenhang war die Tatsache von Interesse, daß 3'-MeDAB bereits nach 26 Wochen bei den Ratten hepatozelluläre Carcinome hervorrief, während bei den Ratten, die mit Aflatoxin B₁ behandelt worden waren, die gleichen Veränderungen erst nach 40 Wochen auftraten. Bei der Maus konnten keine aflatoxinbedingten Veränderungen festgestellt werden.

WOGAN et al. (1971b) untersuchten den Einfluß der chemischen Struktur der Aflatoxine B₁, B₂, G₁ und G₂ sowie drei synthetischer Substanzen, die chemisch den Aflatoxinen nahezu gleichen, auf die carcinogene Wirkungsweise. Dabei stellte sich heraus, daß der Cumarin-Anteil des Aflatoxin B₁ weder toxische noch carcinogene Effekte hervorrufen konnte. Vielmehr sei der Furofuran-Komplex dieses Toxins ausschlaggebend für die Toxizität und Carcinogenität. Weiterhin scheint die Doppelbildung am terminalen Furanring entscheidend für diese akuten und chronischen Wirkungen des Aflatoxin B₁ zu sein, was bei Ratten untersucht worden war. Von Bedeutung waren auch die Substituenten am Lactonring des Moleküls. An der unterschiedlichen Wirkungsweise von Aflatoxin B₁ und Aflatoxin G₁ bei verschiedenen Tierarten wurde dies bestätigt.

In einer ergänzenden Untersuchung fanden EDWARDS et al. (1971) unter anderem, daß Aflatoxin B₁ sich in vitro bezüglich der Bindung an die Desoxyribonukleinsäure anders verhält als unter in vivo Bedingungen. Dabei zeigte es sich, daß die Bindung von Aflatoxin B₁ an die DNS in vitro äußerst gering war, so daß eine Hemmung der RNS-Synthese zu sehen war (vgl. S. 19 und 20). Mehrere Autoren, unter anderem auch MOULE und FRAYSSINET (1972), suchten die Antwort auf das Problem, wodurch und auf welche Weise das Aflatoxin B₁ in einem aktiven Metaboliten in vivo übergeführt wird. Dabei stießen die Verfasser auf eine Substanz, und zwar auf "Compound x", das sich als mikrosomales Enzymabbauprodukt des Aflatoxin B₁ herausstellte.

Diese Verbindung vermochte deutlich den Transcriptionsmechanismus in vitro zu hemmen. Aflatoxin B₁ dagegen erwies sich bei der in vitro Transcription und Translation als inaktiv. Es wäre von Interesse, ob die Substanz "Compound x", die durch enzymatischen Umbau des Aflatoxin B₁ entstand, das eigentliche reaktionsfähige Carcinogen darstellt. Denn es ist klar bewiesen worden, daß viele chemische Carcinogene nicht carcinogen an sich sind, sondern erst durch einen enzymatischen Umbau in Zwischenprodukte oder Endformen die volle Carcinogenität entfalten. Einen weiteren Wirkungsmechanismus des Aflatoxin B₁, der zur Tumorbildung in der Leber führen könnte, brachten CHILDS und Mitarbeiter (1972) in die Diskussion, nachdem sie zeigten, daß bei Regen-

bogenforellen nach intraperitonealer Injektion von 400 mcg/kg Körpergewicht Aflatoxin B₁ sich quantitative Veränderungen im Protein-DNS-Verhältnis im Chromatin der Leberzellen vollzogen. Die Anfärbbarkeit des Chromatins nahm um 41% ab. So wäre möglicherweise die Hemmung der RNS-Synthese durch eine Aflatoxin B₁-bedingte Veränderung im Chromatin-Stoffwechsel ebenso denkbar, als durch die direkte Hemmung der RNS-Polymerase Enzyme.

Den Gehalt an Ribonukleinsäure im Zellkern vermochte Sterigmatocystin im Gegensatz zu Aflatoxin B₁ nicht zu beeinflussen, jedoch war eine Hemmung bei der Einlagerung von C¹⁴-Orotsäure in die nukleare RNS festzustellen gewesen (NEL et al., 1970). ENOMOTO und SAITO (1972) berichteten von einer Hemmung der DNS-Synthese und der RNS-Synthese durch Sterigmatocystin. Weiterhin wurde sowohl bei diesem Mykotoxin als auch bei dem Rubratoxin B eine hemmende Wirkung auf die Mitoserate festgestellt. Im Gegensatz zu Aflatoxin B₁ wurde die Hemmung der Protein-Synthese durch Sterigmatocystin nicht beobachtet. Desgleichen konnte eine Beeinflussung der Protein-Synthese durch das Mykotoxin Rubratoxin B im Vergleich zu Aflatoxin B₁ nicht festgestellt werden (WOGAN et al., 1971a). Die abnorme Aktivitätserhöhung der sauren DNS-ase, wie sie PITOUT et al. (1971) bei Versuchen mit Aflatoxin B₁ feststellten (vgl. S. 22 und 23) konnten diese Autoren mit Sterigmatocystin nicht erzielen. KEMPFF et al. (1973) sahen in einem Langzeitver-

such mit Sterigmatocystin bei Ratten einen deutlichen Anstieg der sauren DNS-ase erst nach 230 Tagen. Dieser Anstieg fiel mit dem Auftreten hyperplastischer Leberkernzellen zusammen. Nach 300 Tagen wurden die ersten Neoplasien beobachtet, wobei ein Absinken der Aktivität der sauren DNS-ase bis auf die Normalwerte festzustellen war. Dieser Effekt könnte in der praecarcinogenen Phase diagnostische Bedeutung erlangen.

Über Veränderungen an den Zellorganen im Zytoplasma berichten BERNHARD et al. (1965), BUTLER (1966a) und THERON (1965), die in einer Dislocierung und Verminderung der Ribosomen, einer Proliferation des endoplasmatischen Retikulums sowie eines Glykogenschwundes und in einer Degeneration der Mitochondrien bestanden. CLIFFORD und RESS (1967) wiesen in diesem Zusammenhang eine Abnahme der ATP-Konzentration in der Leberzelle bei der Ratte um 26% bis 35% nach, jedoch keine Veränderung der ATP-ase-Aktivität. BROWN (1965) sowie BROWN und ABRAMS (1965) stellten dagegen eine Hemmung der Phosphorylierung und Sauerstoffaufnahme in den Mitochondrien durch Aflatoxin B₁ fest. Ähnliche Beobachtungen machten SVOBODA und Mitarbeiter (1966), die bei Leberzellen von Ratten eine Veränderung der Mitochondrienaktivität durch Aflatoxin B₁ feststellten, die durch ein Absinken des Phosphor-Sauerstoff-Verhältnis zum Ausdruck kam.

Bereits geringe Ochratoxin A-Konzentrationen hingen bewirkten eine vollständige Hemmung der mitochondrialen Zellatmung (PITOUT, 1968, MOORE und TRUELOVE, 1970).

STÄHELIN und Mitarbeiter (1968) stellten bei Versuchen mit Diacetoxyascirpenol fest, daß dieses Mykotoxin eine Hemmung des Mitoseablaufs in Fibroblastenkulturen bewirkt. Außerdem vermochte Diacetoxyascirpenol bei Mastocytomzellen den Einbau von Thymidin bis zu 80% zu hemmen. Diese Ergebnisse ließen nach Meinung der Autoren den Schluß zu, daß Diacetoxyascirpenol die DNS-Synthese hemmt.

Wie die histologischen Untersuchungen an den Leberparenchymzellen zeigten, war es aufgrund der Aflatoxin-Einwirkung zu einer Zellzerstörung, zur Zellnekrose gekommen. Dieser Prozeß läßt sich durch Aktivitätsmessungen von zellgebundenen Enzymen im Blutserum nachweisen.

Zu diesen Zellenzymen gehören unter anderem die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), die Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), die Laktat-Dehydrogenase (LDH). Sie kommen nur im Stoffwechselverband der Zellen zur Wirkung; außerhalb der Zellen, im Serum also, sind sie funktionslos. Nach der Lokalisation dieser Enzyme innerhalb der Zelle unterscheidet man einerseits unilokuläre Enzyme wie GPT und LDH, die nur im zytoplasmatischen Raum ihre Wirkung entfalten, andererseits bilokuläre Enzyme wie GOT oder Malat-Dehydrogenase (MDH). Sie kommen sowohl im Zytoplasma als auch in den

Mitochondrien vor. Die Aktivitäten von GOT und GPT im Zytoplasma der Leberzellen sind in etwa gleich hoch und 40% der GOT befinden sich in den Mitochondrien. Je nach dem Grad der Zellschädigung gelangen uni- und bilokuläre Enzyme aus dem Zellverband in das Blut und sind dort durch Bestimmung ihrer Aktivitäten nachzuweisen (SCHMIDT und SCHMIDT, 1969; GERBER et al., 1973). BROWN und ABRAMS (1965) beobachteten bei dem durch Aflatoxin B₁ verursachten Leberschaden einen Anstieg der Enzymaktivitäten von GOT, GPT, LDH und Aldolase. Histochemische Untersuchungen verschiedener Enzyme erbrachten nach Aflatoxin B₁-Belastung einen progressiven Aktivitätsabfall der Succinat-Dehydrogenase, der alkalischen Phosphatase und ATP-ase, jedoch einen Anstieg der sauren Phosphatase (THERON, 1965). CLIFFORD und REES (1967a) fanden einen deutlichen Abfall der Enzymaktivitäten in der Leber und umgekehrt einen Aktivitätsanstieg im Blutserum. Isocitrat-Dehydrogenase, Malat-Dehydrogenase und Glutamat-Dehydrogenase nahmen in ihrer Aktivität in der Leber 24 Stunden nach der Aflatoxin B₁-Verabreichung deutlich ab, während sie im Serum spürbar angestiegen waren. Nach 96 Stunden konnten die Verfasser einen signifikanten Anstieg der alkalischen Phosphatase und des Bilirubins im Serum feststellen. Eine Erhöhung der alkalischen Phosphatase-Aktivität im Serum wurde bereits von ALLCROFT und LEWIS (1963) bei Kälbern beobachtet. LYNCH et al. (1970) er-

härtete für diese Tierart dieses Ergebnis statistisch, wobei eine Signifikanz im Anstieg der alkalischen Phosphatase in einem Versuch mit aflatoxinkontaminiertem Futter ab einer Konzentration von 0,20 mg/kg Körpergewicht zu erkennen war. Nach oraler Verabreichung von Aflatoxinpulver in Gelatinekapseln erzielten LYNCH et al. (1971) den gleichen signifikanten Anstieg der alkalischen Phosphatase schon mit Konzentrationen von 0,08 bis 0,1 mg/kg Körpergewicht. Ebenfalls war eine Signifikanz in der Erhöhung des Gesamt-Bilirubins im Serum von diesen eben genannten Konzentrationen an festzustellen. Bei Verabreichung einer einmaligen Dosis von Aflatoxin B₁ an Kälber per os (LYNCH et al., 1972) war wiederum dieser signifikante Anstieg der alkalischen Phosphatase und des Gesamt-Bilirubins im Serum zu verzeichnen. Die meisten dieser durch Aflatoxin B₁ ausgelösten biochemischen Reaktionen traten jeweils in der zweiten Versuchswoche auf. Ein Absinken der Werte der alkalischen Phosphatase auf die Ausgangswerte nach etwa der Hälfte der Versuchsdauer, wie dies von ALLCROFT und LEWIS (1963) beschrieben worden war, konnten LYNCH et al. (1970, 1971) nicht feststellen. Den Anstieg der alkalischen Phosphatase, die als Exkretionsenzym eine Bedeutung hinsichtlich der Differentialdiagnose zwischen Parenchym- und Okkusionsikterus besitzt, führten LYNCH et al. (1971) in erster Linie auf den extrahepatischen Verschuß der Gallengänge zurück, zumal die pathologisch-anatomischen Veränderungen einen Gallestau mit Vergröße-

rung der Gallenblasen vom zweifachen bis zum zehnfachen ihrer Normalgröße ergaben. In zweiter Linie nannten sie als Ursache die Schädigung der Leberzellen.

Ein zweiter biochemischer Befund deutete darauf hin, daß Aflatoxin B₁ den Vitamin A-Stoffwechsel in Leber und Blutserum zu beeinflussen imstande war. Eine meist völlige Erschöpfung des Vitamin A-Speichers in der Leber sowie eine Reduzierung des Vitamin A-Spiegels im Serum, besonders bei Kälbern, wurden von mehreren Autoren beschrieben (ALLCROFT und LEWIS, 1963; LYNCH et al., 1970, 1971, 1972). Verschiedentlich wird auch die Beeinflussung des Gehaltes der Plasmaproteine diskutiert (GEDEK, 1967; SMITH et al., 1969 u.a.). Sie konnte zum Beispiel bei Blutuntersuchungen von Hunden, die Mischungen der Aflatoxine B₁, B₂, G₁ und G₂ erhalten hatten, eine signifikante Erhöhung nicht nur der alkalischen Phosphatase, sondern auch der α_2 -, β_1 - und β_2 -Globuline sowie des Prothrombins verzeichnet werden (ARMBRECHT et al., 1971). Bei Eintagsputenküken hingegen fanden RICHARD und Mitarbeiter (1973) nach oraler Applikation von 0,5 ppm Aflatoxin B₁ eine signifikante Abnahme des Gesamtproteins im Serum, ebenso der Albumine, der α - und β -Globuline, jedoch einen signifikanten Anstieg der φ -Globuline.

Daß die Mykotoxinwirkung auch in diesem Fall speziesabhängig ist, zeigte die Untersuchung von LYNCH et al. (1971), die Kälber mit Aflatoxin B₁ belastet

hatten und dabei keine Veränderungen des Albumin-Globulin-Quotienten sowie des Gesamtproteins feststellen konnten. Im Rahmen desselben Versuches wurde zugleich der Kupfergehalt der Leber bestimmt. Auch hier ergaben sich keine Abweichungen von der Norm.

Den Einfluß von Aflatoxin B₁ und G₁ auf den Cholesterin- und Lipidgehalt der Leber bei Entenküken untersuchten LYND und LYND (1970), wobei die Größe der Lebern von 3,8% auf 4,4% zunahm und der Gesamtlipidgehalt in der Leber von 23% auf 14% gesunken war, während der Cholesteringehalt mit über 22% angegeben wurde. Eine Störung des Lipidtransportes im Serum stellen HSI-TANG-TUNG et al. (1972) bei Hühnern fest. Vermutet wurde, daß die Veränderung des Lipidtransportes bei einer Aflatoxicosis eine Primärschädigung darstellt und nicht sekundär durch den generellen Defekt im Nukleinsäurestoffwechsel hervorgerufen wird.

Die Leber als zentraler Angelpunkt im Stoffwechselgeschehen des Organismus wurde im Zusammenhang mit dem Metabolismus von Mykotoxinen, insbesondere von Aflatoxin B₁, wiederum in den Mittelpunkt zahlreicher Untersuchungen gerückt. Nach einmaliger intraperitonealer Injektion von C¹⁴-markiertem Aflatoxin B₁ fanden BASSIR und OSIYEMI (1967) bei Ratten bereits nach sechs Stunden 30% des markierten Materials in die Galle ausgeschieden, wobei davon 10% ein Gemisch aus Aflatoxin B₁ und M₁, dem hydroxyliertem Aflatoxin B₁, war. Die restlichen 20% des

ausgeschiedenen Materials in der Galle waren mit Taurocholsäure konjugiert. 25% bis 26% des markierten Toxins wurden, an Glucuronsäure gebunden, im Harn ausgeschieden. Die Hauptretention in den Organen 24 Stunden nach der Toxininjektion, lag mit 6% bis 9% in der Leber (WOGAN, 1966). SHANK und WOGAN (1965) machten in diesem Zusammenhang die Beobachtung, daß das mit C^{14} an der Methoxy-Gruppe markierte Aflatoxin B_1 in der Rattenleber demethyliert wurde und dabei CO_2 abspaltete, während das am Ring selbst mit C^{14} markierte Aflatoxin B_1 kein CO_2 lieferte, Die Ringstruktur des Aflatoxins erwies sich als stabil.

Untersuchungen von DALEZIOS und WOGAN (1972) zeigten, daß C^{14} -markiertes Aflatoxin B_1 , an Rhesaffen intraperitoneal appliziert, zu einem gewissen Prozentsatz in der Leber zurückgehalten wurde, und zwar in der Hauptsache durch Bindung an Leberproteine. Weitere Versuche mit Hilfe der Gelelektrophorese des Blutserums ließen eine Bindung der Radioaktivität mit der Albuminfraktion erkennen. In diesem Zusammenhang sind die Untersuchungsergebnisse von KROGH et al. (1970) von besonderer Bedeutung. Er prüfte, ob eine langfristige Verfütterung aflatoxinhaltigen Erdnußschrotes in subletaler Menge (0,300 ppb, 0,500 ppb Aflatoxin B_1 und B_2) an Schweine zu einer Anreicherung der Aflatoxine in Organen und Geweben führt. In etwa 80% der Organe Leber und Niere konnten Aflatoxine nachgewiesen werden, wobei etwa 50% der Lebern einen Gehalt zwi-

schen 10 ppb und 60 ppb Aflatoxin B₁ und B₂ aufwiesen. Da zu diesem Zeitpunkt die Organe pathologisch- anatomisch keine Veränderungen zeigen, bleiben sie bei der Fleischschau unbeanstandet und gelangen mit diesem Aflatoxingehalt an den Verbraucher.

Das bereits erwähnte hydroxylierte Derivat des Aflatoxin B₁, das Aflatoxin M₁, fanden ALLCROFT und CARNAGHAN (1963) sowie DE IONGH et al. (1964) in der Milch von Kühen, denen aflatoxinhaltiges Erdnußmehl verfüttert worden war. Diese hydroxylierten Derivate konnten DE IONGH et al. (1964) aus der Milch laktierender Ratten, BUTLER und CLIFFORD (1965) aus der Rattenleber und ALLCROFT et al. (1966) sowie MASRI et al. (1967) aus dem Harn von Schafen isolieren. DALEZIOS et al. (1971) fanden einen neuen Aflatoxin B₁-Metaboliten, das Aflatoxin P₁, das im Urin von Rhesusaffen ausgeschieden worden ist. Die Bildung dieses Aflatoxin P₁ erfolgte über den Weg der O-Demethylierung des Aflatoxin B₁. Weiterhin zeigte sich, daß dieser neue Metabolit etwa 60% der im Urin ausgeschiedenen Aflatoxin-Derivate ausmachte. Davon sind annähernd 50% als Glucoronide, 10% als Sulfate und 3% als nicht konjugierte Phenole vorhanden. Zusammengenommen stellte dies mehr als 20% der verabreichten Aflatoxinmenge dar, wohingegen der bis dahin einzig bekannte Metabolit Aflatoxin M₁ nur 2,3% ausmachte.

PATTERSON und ROBERTS (1972) stellten fest, daß Leberhomogenate von Hühnern, Enten, Truthühnern, Wachteln, Meerschweinchen, Kaninchen und Mäusen in

der Lage waren, Aflatoxin B₁ durch ein lösliches NADPH₂-verbundenes zytoplasmatisches Enzymsystem in Aflatoxicol zu reduzieren, wobei es sich um eine in vitro reversible Reaktion handelte. Diese enzymatische Reduktion des Aflatoxin B₁ zu Aflatoxicol konnte jedoch durch Androstendion und deren Oestron gehemmt werden.

Unter ähnlichen Versuchsbedingungen wie PATTERSON und ROBERTS (1972) fanden GARNER und Mitarbeiter (1972) einen Metaboliten, jedoch nicht das Aflatoxicol, der sich gegenüber *Solmonella typhimurium* TA 1530 als toxisch erwiesen hat. Es wird diskutiert, ob dieses Derivat nicht auch eine Rolle in der Hepatocarcinogenität spielt. Einen ähnlichen Metabolismus erwarten diese Autoren auch von dem Schimmelpilztoxin Sterigmatocystin. Das mikrosomale Enzymsystem zeigte sich weiterhin befähigt, durch Induktion des Aflatoxin-4-Hydroxylase Enzymsystem das Aflatoxin B₁ zu seinem Hemiacetal Aflatoxin B_{2a} zu hydroxylieren (SCHABORT und STEYN, 1969; PATTERSON und ALLCROFT, 1970; PATTERSON und ROBERTS, 1970).

3. Eigene Untersuchungen

Die hepatotoxische Wirkung von Mykotoxinen wurde an insgesamt 24 Kälbern in zwei chronischen Belastungsversuchen über jeweils zehn Wochen untersucht. Innerhalb eines ersten Versuchs erfolgte die chronische Belastung während der Mast. Die Durchführung eines zweiten Versuchs diente der Überprüfung des Einflusses der chronischen Mykotoxinbelastung unter Aufzuchtbedingungen.

3.1. Chronische Belastungen von Kälbern mit Aflatoxin B₁ während der Mast.

3.1.1. Für diesen Mastversuch wurden zehn Kälber verschiedener Rassen, wie Höhenfleckvieh, Deutsches Schwarzbuntes Vieh, Deutsches Braunvieh und Pinzgauer aufgestellt. Da eines der zwei bis drei Wochen alten Tiere unerwartet nach der parenteralen Applikation eines Multivitaminpräparates infolge eines dabei erlittenen anaphylaktischen Schocks verendete, konnten für den Versuch nur neun Tiere herangezogen werden. Die Tiere wurden in einem freien Anbindestall mit Stroheinstreu gehalten und die Kälber für die Belastung mit zwei verschiedenen Aflatoxin B₁ Dosierungen auf zwei Gruppen so verteilt, daß die Durchschnittsgewichte ca. 56 kg in jeder Gruppe betrugen.

Zur Mast kam "Lactina-Milk"-Milchaustauscher der
Firma Lactina AG, Kehl/Rhein, mit folgender Zu-
sammensetzung zum Einsatz:

Wertbestimmende Bestandteile:

24,0% Rohprotein

15,0% Rohfett

0,1% Rohfaser

Einzelbestandteile:

67,00% Magermilchpulver

7,50% pflanzliche Fette (Palmkerne, Kokos,
Soja 4 : 1, 5 : 2)

1,00% Soja-Lecithin

7,50% tier.raff.Fette (Seetier, Rinder, Schweine
4 : 1 : 1)

5,60% Molkenpulver

6,60% Traubenzucker

4,00% Maisquellstärke

0,50% Mineralstoffmischung für Kälber

0,20% Antibiotika-Vormischung 40 g CTC
Reg.Nr. 4587/68

0,10% Vitamin-Vormischung für Kälber

100,00%

Pro 1 kg dieses Milchaustauschers waren folgende
Zusätze angegeben:

30.000 I.E.	Vitamin A
3.750 I.E.	Vitamin D ₃
30 mg	Vitamin E
150 mg	Vitamin C
5 mg	Vitamin B ₁
7 mg	Vitamin B ₂
2 mg	Vitamin B ₆
30 mg	Vitamin B ₁₂
1 mg	Folsäure
50 mg	Nicotinsäure
20 mg	Pantothensäure
250 mg	Cholinchlorid
2 mg	Vitamin K ₃
80 mg	Chlortetracyclin
30 mg	Zink
10 mg	Kupfer
10 mg	Mangan
0,2 mg	Kobalt
0,2 mg	Jod

Der Fütterungsplan für diesen Mastversuch hielt sich an die Angaben des Futtermittelherstellers (vgl. Tabelle 1).

Tabelle 1: Tränkeplan für Mastkälber nach Hersteller-Angaben

Woche	Liter	g/l
1.	3	80
steigend bis	4	120
2.	6	120
3.	6	130
4.	8	150
5.	10	160
6.	10	170
7.	10	180
8.	10	190
9.	12	200
10.	12	200
11.	12	200
12.	12	200

Die Tränketemperatur betrug 39° bis 41° C.

Die Kälber wurden zweimal täglich mit Hilfe von Saugern aus Plastikeimern getränkt. Das Anlegen von Plastikmaulkörben zwischen den beiden Fütterungszeiten sollte die Aufnahme von Einstreu und das gegenseitige Belecken verhindern.

3.1.1.2. Gruppeneinteilung und Toxinapplikation

Die Verteilung der Tiere auf zwei Gruppen erfolgte so, daß der Gruppe 1 vier (zwei männliche, zwei weibliche) und der Gruppe 2 fünf Tiere (drei männliche, zwei weibliche) der verschiedenen Rassen, wie Höhenfleckvieh, Deutsches Schwarzbuntes Vieh, Deutsches Braunvieh und Pinzgauer angehörten.

Zwölf Tage nach der Aufstallung erhielten die Kälber über einen Zeitraum von 70 Tagen wöchentlich steigende Mengen von gelöstem Aflatoxin B₁ (MAKOR, Jerusalem) in zwei verschiedenen Konzentrationen.

Zwei Gebrauchslösungen wurden dazu hergestellt:

- A) 50 mg kristallines Aflatoxin B₁ (Makor Chemicals Ltd., Israel) + 5 ml Dimethylformamid (DMF) + 495 ml Rinderamnionflüssigkeit (RAF) und
- B) 50 ml Lösung A + 450 ml RAF

Die Lösungen wurden tiefgefroren und bei - 20°C aufbewahrt. Die davon täglich für die Applikation benötigten Mengen wurden jeweils kurz zuvor aufgetaut.

Tabelle 2: An Kälber pro Tag und Tier während der Mast
verabreichte Aflatoxin B₁-Dosen

Woche	Gebrauchs- lösung A bzw. B	RAF	darin enthaltene Aflatoxin B ₁ - Menge in mcg	
			bei Gruppe 1	bei Gruppe 2
1.	0,2	4,8	2	20
2.	0,4	4,6	4	40
3.	0,6	4,4	6	60
4.	0,8	4,2	8	80
5.	1,0	4,0	10	100
6.	1,2	3,8	12	120
7.	1,4	3,6	14	140
8.	1,6	3,4	16	160
9.	1,8	3,2	18	180
10. -	2,0	3,0	20	200
12.				

Die Gruppe 1 erhielt damit eine um das Zehnfache geringere Toxinmenge als Gruppe 2, angepaßt an die Werte, die im Minimum respektive Maximum vom Institut für Mikrobiologie und Infektionskrankheiten der Universität München von Aflatoxin B₁ in Starter- und Mastfuttermitteln für Kälber nachgewiesen worden sind. Sie entsprechen in Gruppe 1 ungefähr jenen Mengen, die NEUMANN-KLEINPAUL und TERPLAN (1972) in Trockenmilchprodukten vom Aflatoxin M₁, welches in seiner Toxizität weitgehend dem Aflatoxin B₁ ent-

spricht (GOLDBLATT 1969 u.a.), gefunden haben und welche mit den heute üblichen DC-Verfahren, bezogen auf sich je Woche steigende Milchaustauschmengen pro Liter Tränke, gerade noch erfassbar waren (GOLDBLATT, 1969).

3.1.1.3. Hämatologische Untersuchungen

Im Abstand von zwei Wochen wurden den Kälbern aus der V. jugularis je 20 ml Blut entnommen und im Labor der Medizinischen Tierklinik folgende Untersuchungen durchgeführt:

1. Zählung der Erythrozyten und Leukozyten,
2. Differenzierung des weißen Blutbildes,
3. Hämatokritbestimmung nach Wintrobe
(Kalium-Ammoniumoxalat als Antikoagulans,
bei 3.000 U/min. 30 Minuten lang zentrifugiert),
4. Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit.

3.1.1.4. Chemische Untersuchungen

Von diesen Blutproben wurde außerdem durch 15-minütiges Zentrifugieren bei 3.500 U/min. Serum im Labor der Medizinischen Tierklinik, München, gewonnen und damit photometrische Enzymbestimmungen mit den Biochemica-Test-Kombinationen der Firma Boehringer, Mannheim, vorgenommen und zwar zur Ermittlung von

SGOT (Serum-Glutamat-Oxalazetat-Transaminase)
SGPT (Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase) und
LDH (Laktat-Dehydrogenase).

Außerdem wurde die alkalische Phosphatase mittels
"Phosphatabs Alkaline" nach General Diagnostic
Division, Warner Chilcott Laboratories, Morris
Plains, N. J., USA, bestimmt.

Nach Beendigung der Versuchsreihe wurde bei Leber-
proben aller Versuchstiere zusätzlich die Bestim-
mung des Kupfergehaltes durch die Abteilung von
Herrn Dr. Planck, TGD, Grub, mittels trockener
Veraschung vorgenommen und dort auch das Futter
auf seinen Cu-Gehalt kontrolliert.

Der Vitamin A-Gehalt wurde in Leberproben und Blut-
seren aller Kälber durch Herrn Dr. Hoppe, Institut
für Ernährungsphysiologie der Tiere, (Vorstand Herr
Prof. Dr. Dr. J. Tiews †, München), ermittelt, wo-
bei die Vitamin A-Analysen in der Leber in Doppel-
bestimmungen, im Blutserum in Dreifachbestimmungen,
durchgeführt wurden.

Ferner gaben Untersuchungen des Milchaustauschers
mit der Methode von Pons et al. (1966) Aufschluß
darüber, ob das Futter frei war von Beimengungen
der Aflatoxine. Nach der Schlachtung der Tiere wur-
de das Lebergewebe der Kälber mit dem gleichen
Verfahren auf den Gehalt von Aflatoxinen hin, ins-
besondere auf Aflatoxin B₁ und M₁, untersucht.

3.1.1.5. Pathologisch-anatomische Untersuchungen

Vier Wochen nach Versuchsbeginn wurden von Kälbern jeder Gruppe Leberbiopsieproben entnommen, wobei alle Leberstückchen in Formalin 1 : 7 und nur zwei Proben zusätzlich in Rossmann'scher Lösung fixiert wurden. Zur Anfärbung der histologischen Schnitte wurden die Färbungen angewendet, wie sie nachstehend unter 1. bis 3. und 6. angeführt werden. Nach Bestimmung der erreichten Endgewichte der Kälber erfolgte die Schlachtung der Tiere im Schlachthaus der Bayerischen Landesanstalt für Tierzucht in Grub. Die getöteten Tiere wurden in der Sektionshalle der Institute für Tierpathologie der Universität München pathologisch-anatomisch untersucht sowie das jeweilige Leber- und Nierengewicht festgestellt.

Für die histologische Untersuchung, unter Anleitung von Herrn Dr. T. Hänichen, wurden Teile von Leber, Nieren, Herz und Milz der einzelnen Kälber in Formalin 1 : 7 und Teile von den Lebern auch in Rossmann'scher Lösung fixiert. Anschließend erfolgte die Einbettung in Paraplast. Es wurden drei bis vier μ dicke Gewebeschnitte angefertigt und wie folgt gefärbt:

1. mit Hämalan-Eosin,
2. nach der Best'schen Carmin-Färbung zur Glykendarstellung
3. Silberimprägnation nach Wilder zum Retikulin-faser-Nachweis,
4. nach der Weigert's elastica-van Gieson Färbung,
5. mit Bieberich'schem Scharlachrot bei Gegen-

färbung der Kerne mit Hämalaun zur Fettdarstellung an Gefrierschnitten und
6. zur Eisenpigmentdarstellung mit Berliner-Blau.

3.1.2. Ergebnisse

3.1.2.1. Körpergewichte und mittlere Tageszunahme der Mastkälber

Die durchschnittliche Zunahme des Körpergewichtes bei dem Kälbermastversuch betrug in der Gruppe 1 = 57,25 kg, was bei einer 82-tägigen Mastdauer einer mittleren täglichen Zunahme von 0,715 kg entspricht. Die Kälber der Gruppe 2 wiesen demgegenüber eine durchschnittliche Gewichtszunahme von 55,8 kg bzw. eine mittlere tägliche Zunahme von 0,697 kg auf. Die Werte für die einzelnen Tiere sind Tab. 3 zu entnehmen.

Tabelle 3: Tägliche und gesamte Körpergewichtszunahme der Versuchstiere während der Mast

Gruppe	Tier-Nr.	Anfangsgewicht (kg)	Endgewicht (kg)	Zunahme (kg)	tägliche Zunahme (kg)
1	1	45,0	100,0	55,0	0,687
	2	60,0	116,0	56,0	0,700
	3	59,0	120,0	61,0	0,762
	4	63,0	120,0	57,0	0,712
2	5	62,0	105,0	43,0	0,537
	6	57,0	111,0	54,0	0,675
	7	54,0	116,0	62,0	0,775
	8	55,0	116,0	61,0	0,762
	10	49,0	108,0	59,0	0,737

Durchschnittliche Tageszunahme:

Gruppe 1 0,715 kg

Gruppe 2 0,697 kg

Durchschnittliche Gewichtszunahme:

Gruppe 1 57,250 kg

Gruppe 2 55,800 kg

Damit lagen die Gewichtszunahmen in beiden Gruppen weit unter den zu erwartenden Werten von 1,000 bis 1,200 kg pro Tag und Tier.

3.1.2.2. Blutstatus

Wie aus Tabelle 4 zu ersehen ist, ergab die Erythrozytenzählung unterhalb der Norm liegende Werte für die roten Blutkörperchen, ebenso fiel eine ausgeprägte Leukopenie auf. Beide Arten von Befunden waren bei allen Kälbern zu erheben. Das Vorliegen einer Anämie kam außerdem in den Werten der Hämatokrit-Bestimmung zum Ausdruck.

Bei der Differenzierung des Blutbildes fielen bei allen Kälbern an den Erythrozyten als Nebenbefunde morphologische Veränderungen auf, wie Anisozytose, Poikylozytose, Oligochromämie.

Erythrozyten von Kalb Nr. 1 und Nr. 10 wiesen eine basophile Tüpfelung auf. Abgesehen von einer ausgeprägten Lymphozytose bei Kalb Nr. 7, 8 und 10, zeigten die Differentialblutbilder der übrigen Tiere keine Besonderheiten.

Die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit gab bei allen Kälbern Normalwerte an (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Durchschnittswerte der morphologischen Blutuntersuchungen während des Mastversuchs

Blutkörperchen	Gruppe 1				Gruppe 2						Normalwerte Rind
	Kalb-Nr.				Kalb-Nr.						
	1	2	3	4	5	6	7	8	10		
Erythrozyten i. Mio. mm ³	7, 6	6, 64	6, 92	5, 97	5, 92	6, 77	5, 48	5, 31	5, 14		7 - 14
Leukozyten i. T. mm ³	7, 650	3, 050	7, 000	6, 350	4, 100	7, 600	3, 600	5, 250	3, 550		12 - 15.000
Basophile	-	-	-	-	-	-	-	-	-		0, 1
Eosinophile	2	-	-	1	4	5	-	1	-		6
Jugendliche	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Stabkernige	1	-	-	1	1	2	-	1	1		35, 9
Segmentkernige	34	40	26	26	30	49	10	10	6		
Lymphozyten	60	60	70	70	62	31	88	84	92		53
Monozyten	3	-	4	2	3	13	2	4	1		6
Hämatokrit-Wert Vol. %	22	20	31	34	21	19	20	22	22		33 - 47

3.1.2.3. Serumenzyme

Bei der Untersuchung der leberspezifischen Enzyme Serum-Glutamat-Oxalazetat-Transaminase (SGOT), Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (SGPT) und der Laktat-Dehydrogenase (LDH) fiel besonders eine hohe Aktivität der LDH bereits zu Versuchsbeginn auf. Nach zwei Wochen langer Toxinbelastung ergab dagegen die erste Untersuchung im Vergleich dazu einen signifikanten Abfall der LDH-Aktivität, teilweise bis in den Bereich für das Rind als normal geltender Werte. Die folgenden, bis zum Versuchsende in zweiwöchigem Abstand, durchgeführten Enzymbestimmungen zeigten ein weiteres, wenn auch individuelles Absinken der LDH-Aktivitäten an, wobei letztlich die Werte aller Versuchstiere bei Versuchsende im Normbereich lagen.

Die SGOT-Werte waren bei allen Tieren bei Versuchsbeginn höher als es den Erfahrungswerten entspricht; bei Kalb Nr. 4 der Gruppe 1 und bei Kalb Nr. 7 und Nr. 10 der Gruppe 2 gingen sie auch nicht nennenswert innerhalb der ersten drei Wochen der Toxinapplikation zurück. Dagegen waren bei allen anderen Tieren bereits nach drei Wochen der chronischen Belastung mit Aflatoxin B₁ Aktivitäten meßbar, die der Norm entsprechen und die nicht das Vorliegen eines Leberparenchymschadens charakterisieren. Die Aktivitäten der SGPT lagen mit Ausnahme von drei Kälbern bei allen Versuchstieren während der

gesamten Versuchsdauer nahezu gleichbleibend im Normbereich.

Die auffallend höheren Werte der LDH fielen mit der Erhöhung der Tränkemenge bzw. Konzentration des darin enthaltenen Milchaustauschers zusammen (vgl. S. 39).

Die alkalische Phosphatase erreichte in der vierten und sechsten Woche der Toxinbelastung mit 22 BE (BODANSKI-Einheiten) die höchsten Werte, die unter der Belastung gemessen wurden. Im weiteren Verlauf kam es auch hier wiederum zum Absinken der Werte, wie die in der 8. und 10. Woche der Toxinbelastung durchgeführten Bestimmungen zeigten (vgl. Tabelle 5).

Tabelle 5: Gesamtübersicht der Ergebnisse der Serum-
enzymbestimmungen während des Kälber-
mastversuches (siehe folgende Seite)

Tabelle 5

Gruppe	Woche	Einzelwerte in mU/ml (BE)			
		SGOT	SGPT	LDH	alkalische Phosphatase
Gruppe 1 Kalb Nr. 1	2. ⁺	29,5	6,7	1241	6-12
	4.	21,2	6,7	810,7	12-22
	6.	17	8	955	12-22
	8.	15	7	881	12
	10.	13	2	764	6
	12.	17	6	688	12
Kalb Nr. 2	2. ⁺	36	8,5	2149	6
	4.	15	4	1050	22
	6.	13	4	861	12
	8.	11	7,4	860	6-12
	10.	21	2	773,5	3- 6
	12.	15	6	783	6-12
Kalb Nr. 3	2. ⁺	34	8,5	1189	6-12
	4.	25,5	8,5	955	12
	6.	19	4	969	22
	8.	17	7	927	12
	10.	17	1	1098	3- 6
	12.	21	4	1022	12
Kalb Nr. 4	2. ⁺	59	8,5	1720	6-12
	4.	43,5	6,5	1420	12
	6.	28	5	1104	22
	8.	23	7	1050,5	12
	10.	19	13	907	6
	12.	17	2	879	12

Zeichenerklärung: BE = Bodanski-Einheiten

+ am Tag der ersten Toxingabe

Tabelle 5

Gruppe	Woche	Einzelwerte in mU/ml (BE)			
		SGOT	SGPT	LDH	alkalische Phosphatase
Gruppe 2	2. +	21	7	955	6
Kalb Nr. 5	4.	11	4	860	12-22
	6.	13	4	669	12
	8.	17	18	745	6
	10.	8,5	2	573	6
	12.	17	11	573	6
Kalb Nr. 6	2. +	38	7	1529	6
	4.	23	8,5	764	12
	6.	23	4	764	6-12
	8.	27,5	7	888	12
	10.	11	1	812	6
	12.	17	4	717	12
Kalb Nr. 7	2. +	72	8,5	1432	6-12
	4.	38	7	955	12-22
	6.	25	6	1241	6-12
	8.	21	4	984	6
	10.	17	4	907	3- 6
	12.	21	4	887	6-12
Kalb Nr. 8	2. +	32	8,5	1877	6-12
	4.	19	7	814	12-22
	6.	17	4	1096	22
	8.	22	4	879	12
	10.	6	2	984	3- 6
	12.	21	4	1003	12

Zeichenerklärung: BE = Bodanski-Einheiten

+ am Tag der ersten Toxingabe

Fortsetzung Tabelle 5

Gruppe	Woche	Einzelwerte in mU/ml (BE)			
		SGOT	SGPT	LDH	alkalische Phosphatase
Gruppe 2	2. +	61	8,5	1720	6-12
Kalb Nr.	4.	28	8,5	1145	6
10	6.	34	7	1145	22
	8.	21	7	1022	12
	10.	17	1	1060	12
	12.	17	2	860	12

Zeichenerklärung: BE = Bodanski-Einheiten

+ am Tag der ersten Toxingabe

Abb. 1: Graphische Darstellung der Serumenzyme unter
Aflatoxin B₁-Belastung

a) SGOT

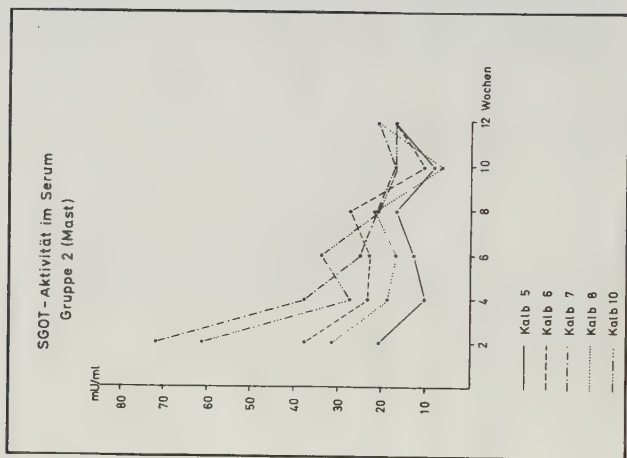
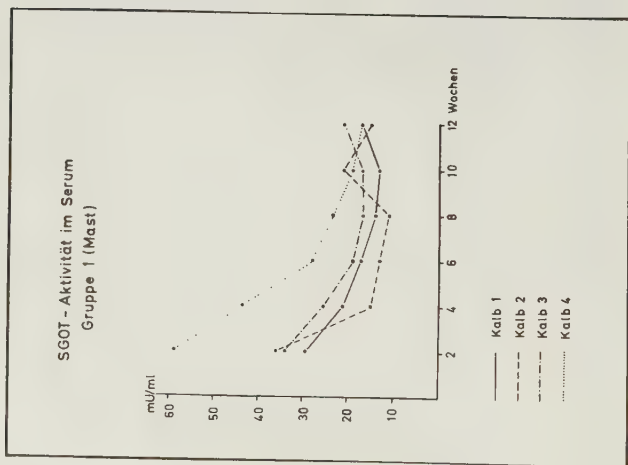


Abb. 2: Graphische Darstellung der Serumenzym-Werte unter Aflatoxin B₁-Belastung

b) SGPT

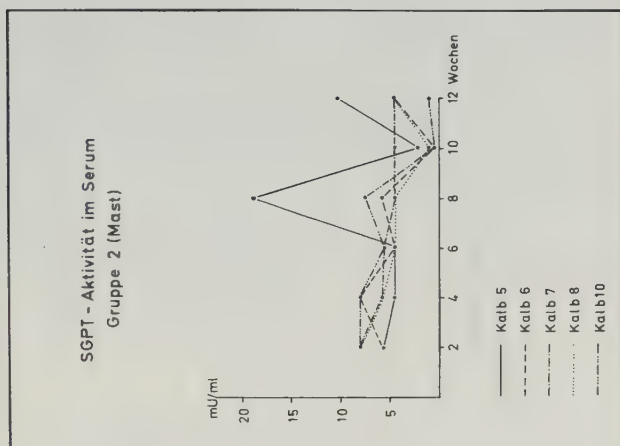
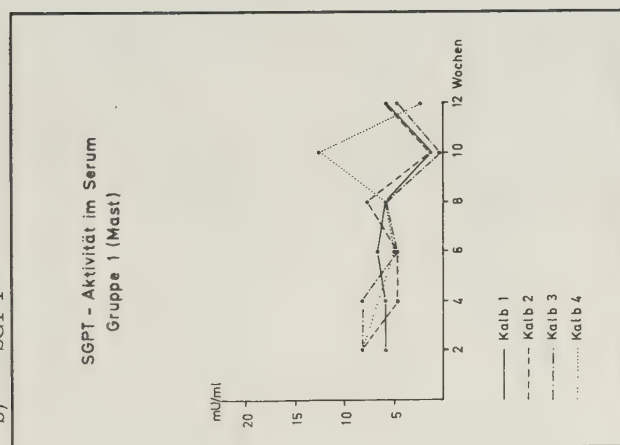


Abb. 3: Graphische Darstellung der Serumenzym-Werte unter Aflatoxin B₁-Belastung

c) LDH

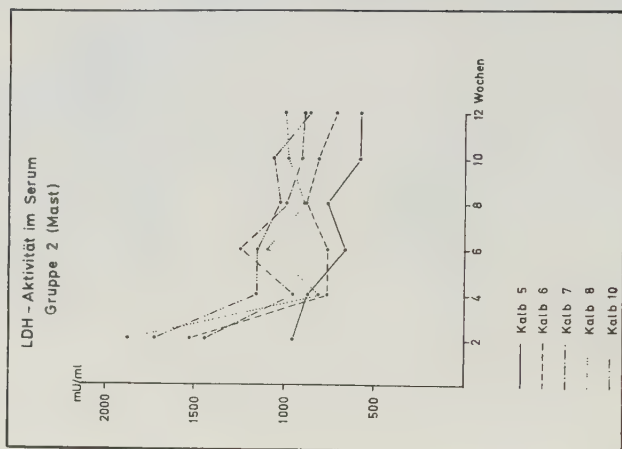
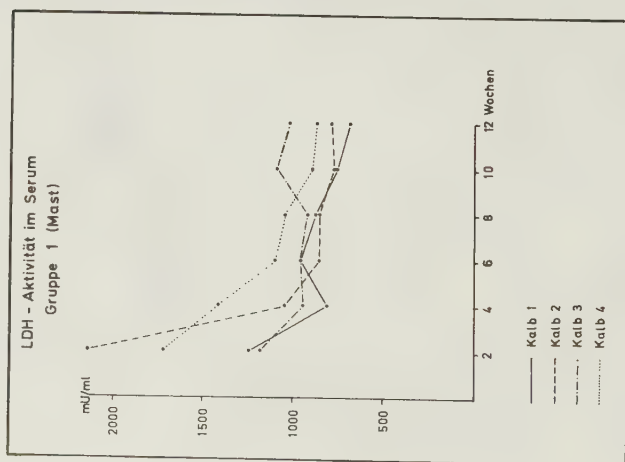


Tabelle 6: Statistische Auswertung der leberspezifischen
Serumenzym-Werte
während der Mast

Zweifache Varianz-Analyse (RENNER, 1970)					
Variations- ursache	SQ	FG	MQ	F	Signifikanz
Glutamat-Oxalazetat-Transaminase (GOT):					
Total	6 021,79	26	-	-	-
zwischen Gruppen	25,18	1	25,18	1	nicht signifikant
zwischen Wochen	2 369,63	2	1 184,81	7,51	p 0,01%
innerhalb	3 626,98	23	157,69	-	-
Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT):					
Total	83,22000	26	-	-	-
zwischen Gruppen	0,00269	1	0,002690	1	nicht signifikant
zwischen Wochen	36,16958	2	18,084780	8,84	signifikant p 0,01%
innerhalb	47,04773	23	2,045553	-	-
Laktat-Dehydrogenase (LDH):					
Total	3 610 984,58	26	-	-	-
zwischen Gruppen	33 281,78	1	33 281,78	1	nicht signifikant
zwischen Wochen	1 869 289,55	2	734 644,77	12,58	p 0,01%
innerhalb	1 708 413,25	23	74 278,84	-	-

Zeichenerklärung: S.S. 88

Die Kupfergehalte der Leber der Mastkälber unterschieden sich erheblich voneinander. Vergleicht man die Einzelergebnisse mit den von BAUR (1967) angegebenen Normalwerten von 150 bis 750 ppm Kupfer pro Trockensubstanz Leber und mit dem für den Gesundheitszustand bereits "kritischen Wert" von 800 bis 900 ppm Kupfer TS Leber, so entspricht danach der Kupfergehalt der Leber vom Kalb Nr. 2 und Nr. 4 (Gruppe 1) und vom Kalb Nr. 5 und Nr. 6 (Gruppe 2) nur den im physiologischen Bereich liegenden Werten. Höhere Werte, wie sie bei Kalb Nr. 1 und Nr. 3 (Gruppe 1) und Kalb Nr. 7, 8 und 10 (Gruppe 2) nachgewiesen wurden, wären eigentlich nicht zu erwarten, nachdem sich in den ermittelten Serumenzymwerten keine Anzeichen für das Vorliegen eines Leberparenchymschadens ergeben hatten.

Tabelle 7: Kupfergehalt in den Lebern nach Beendigung
des Mastversuchs

Leber des Kalbes Nr.	Cu mg/kg TS	TS %
<u>Gruppe 1</u>		
1	1716	26,34
2	549	25,76
3	1006	26,12
4	515	25,98
<u>Gruppe 2</u>		
5	517	26,20
6	611	26,03
7	827	26,03
8	1284	26,98
10	959	26,24

Zeichenerklärung: TS = Trockensubstanz

3.1.2.5. Vitamin A-Gehalt in Leber und Serum

Sowohl der Gehalt an Vitamin A in der Leber als auch der Vitamin A-Spiegel im Blutserum waren bei den Mastkälbern im Vergleich zu den von ROSENBERGER (1970) angegebenen physiologischen Werten sehr hoch.

Tabelle 8: Ergebnisse der Vitamin A-Bestimmung im Serum und in der Leber am Ende der Mast

Kalb-Nr.	IE Vit. A/100 ml Serum	IE Vit. A/g Leber
<u>Gruppe 1</u>		
1	92	912
2	98	770
3	86	1108
4	127	1031
<u>Gruppe 2</u>		
5	100	811
6	120	995
7	100	1052
8	92	1145
10	72	1213

3.1.2.6. Pathologische Anatomie

Bei der Untersuchung von fünf Kälbern entnommener Leberbiopsieproben wurden folgende Ergebnisse erhalten. Kalb Nr. 1 zeigte eine diffuse Glykogenspeicherung in den Leberzellen, bei Kalb Nr. 2 fiel dagegen ein Glykogenschwund auf. Die Lebern

der Kälber Nr. 3 und Nr. 6 waren ohne Befund. Lediglich bei Kalb Nr. 10 war eine geringgradige Eisenpigmentablagerung im Zytoplasma der Leberzellen zu erkennen.

Die Sektion ließ bei allen vier Tieren der Gruppe 1 keine Veränderungen erkennen, außer den multiplen, etwa linsengroßen Ulcera im Pylorusbereich beim Kalb Nr. 1 und Kalb Nr. 4.

Auch bei der Versuchsgruppe 2 standen multiple, stecknadelkopfgroße bis linsengroße Ulcera in der Pylorusgegend im Vordergrund, die beim Kalb Nr. 6 und Nr. 10 bereits vernarbt waren.

Bei der histologischen Untersuchung der Lebern bei der Versuchsgruppen zeigte sich bei Kalb Nr. 2 sowie bei den Kälbern Nr. 7, Nr. 8 und Nr. 10 eine tropfige Verfettung der Kupfferschen Sternzellen.

In der Gruppe 1 war der Glykogengehalt in den Lebern der einzelnen Tiere unterschiedlich verteilt.

Kalb Nr. 1 und Nr. 4 wiesen einen starken, Kalb Nr. 2 und Nr. 3 hingegen nur einen geringgradigen Glykogengehalt der Leberzellen auf.

Allen fünf Tieren der Gruppe 2 war ein geringgradiger Glykogengehalt im Zytoplasma der Leberzellen gemein, obwohl die Glykogeneinlagerung immer nur auf einige Lobuli beschränkt war. In den mit Hämalaun-Eosin gefärbten Leberpräparaten der Kälber

Nr. 7 und Nr. 10 fielen zahlreiche Leberzellen auf, die das Bild einer Kernwandhyperchromasie zeigten, jedoch schienen diese Kerne stark aufgequollen und mit einer homogenen Masse ausgefüllt zu sein. Bei der Glykogendarstellung (Best'sche Carmin-Färbung) erwiesen sich diese homogenen, intranukleären Massen als leuchtend rote Kernglykogentropfen.

Eine inter- oder intralobuläre Bindegewebszubildung konnte bei keiner Leber dieser beiden Gruppen festgestellt werden.

Tabelle 8: Gewichte der Lebern und Nieren (Mastversuch)

Kalb Nr.	Niere g	Leber g	Leber in % des Körpergewichtes
<u>Gruppe 1</u>			
1	225	1 800	1,8
2	229	2 210	1,9
3	256	1 725	1,4
4	198	1 939	1,7
<u>Gruppe 2</u>			
5	253	2 015	1,9
6	153	1 706	1,5
7	223	1 980	1,7
8	216	1 916	1,6
10	238	1 676	1,5

Sowohl die Futtermittelanalysen als auch die Untersuchungen von Leberproben auf Aflatoxine nach der Methode von PONS et al. (1966) ergaben keine Beimengungen der Gifte (Nachweisbarkeitsgrenze des Verfahrens 1 - 5 ppb).

3.2. Chronische Belastungen von Kälbern mit den
Mykotoxinen Aflatoxin B₁, Sterigmatocystin und
Diacetoxyscirpenol während der Aufzucht

3.2.1. Material und Methoden

3.2.1.1. Haltung und Fütterung der Tiere

Die Wirkung von verschiedenen Schimmelpilzgiften während der chronischen Belastung unter Aufzuchtbedingungen wurde an 15 Kälbern überprüft. Die verschiedenen Rassen der Tiere und die Aufstallungsbedingungen entsprachen denen im Mastversuch (s. Seite 37).

Die Kälber erhielten das Milchaustauschfutter für Aufzucht "Lactina Milk 8" (Firma Lactina AG, Kehl/Rhein) als Tränke, und zwar 12 Wochen lang acht Liter pro Tag und Tier. Die Konzentration des Milchersatzes betrug einheitlich über den ganzen Versuch 100g/l Tränke.

Zusätzlich erhielten die Tiere "Lactina-Korn-Starter", gepreßt. Die Anfangsration betrug 100 g/Tag und Tier und steigerte sich pro Woche jeweils um durchschnittlich 100 g.

Die Zusammensetzung des Milchaustauschfutters "Lactina-Milk 8" war nach Angaben des Futtermittelherstellers folgende:

Gehalt an wertbestimmenden Bestandteilen

34,0% Rohprotein

6,0% Rohfett

3,0% Rohfaser

Einzelbestandteile

50,00% Magermilchpulver

21,00% Erdnußkuchen - Expeller

19,00% Leinkuchen - Expeller

3,00% Süßmolkenpulver

3,00% Fett (Seetier, Kokos, Soja, Rinder 5:2:2:1)

1,75% Sojaschrot, extrahiert

2,00% Mineralstoffmischung für Kälber

0,20% Antibiotische Vormischung 40 g CTC
Reg.Nr. 290/69

0,05% Vitamin-Vormischung für Kälber

100,00%

Für 1 kg Lactina-Milk 8 waren folgende Zusätze
angegeben:

15 000 I.E. Vitamin A

1 875 I.E. Vitamin D₃

15 mg Vitamin E

75 mg Vitamin C

2,5 mg Vitamin B₁

3,5 mg Vitamin B₂

1,0 mg Vitamin B₆

15 mg Vitamin B₁₂

0,5 mg Folsäure
25,0 mg Nicotinsäure
10,0 mg Pantothensäure
125,0 mg Cholinchlorid
1,0 mg Vitamin K₃
50,0 mg Eisen
40,0 mg Kupfer
3,0 mg Mangan
0,1 mg Kobalt
0,1 mg Jod
80,0 mg Chlortetracyclin

Der Lactina-Korn-Starter setzte sich folgendermaßen zusammen:

Gehalt an wertbestimmenden Bestandteilen:

20,0% Rohprotein
3,0% Rohfett
8,0% Rohfaser

Einzelbestandteile:

15,00% Gerste
12,00% Kokosschrot, melassiert
12,00% Erdnußschrot, extrahiert
11,00% Weizennachmehl
11,00% Weizenkleie
10,00% Leinexpeller

8,00% Malzkeime
 7,00% Mais
 4,50% Hafer
 4,00% Luzernegrünmehl
 3,00% Sojaschrot, extrahiert
 2,00% Mineralstoffmischung für Kälber
 0,50% Vitamin-Vormischung für Kälber

 100,00%

Für 1 kg Lactina-Korn-Starter waren folgende

Zusätze angegeben:

8 000 I.E. Vitamin A
 1 500 I.E. Vitamin D₃
 40 mg Vitamin E
 10 mg Vitamin C
 2 mg Vitamin B
 50 mg Eisen
 40 mg Zink
 10 mg Kupfer
 3 mg Mangan
 0,1 mg Kobalt
 0,1 mg Jod

Kälber-Aufstallung

<u>Rasse</u>	<u>lfd. Nummer</u>	<u>Geschlecht</u>
Höhenfleckvieh	1 (1)	männl.
Bastard	2 (1)	weibl.
Bastard	3 (1)	weibl.
Allgäuer	4 (1)	männl.

<u>Rasse</u>	<u>lfd. Nummer</u>	<u>Geschlecht</u>
Schwarzbunt	5 (2)	männl.
Pinzgauer	6 (2)	weibl.
Pinzgauer	7 (2)	weibl.
Schwarzbunt	8 (2)	männl.
Allgäuer	9 (2)	männl.
Schwarzbunt	10 (K)	männl.
Pinzgauer	11 (K)	weibl.
Schwarzbunt	12 (3)	männl.
Schwarzbunt	13 (3)	weibl.
Pinzgauer	14 (4)	weibl.
Pinzgauer	15 (4)	männl.

In () Zugehörigkeit zur Gruppe

3.2.1.2. Gruppeneinteilung und Toxinapplikation

Die Kälber wurden in fünf Gruppen eingeteilt. Gruppe 1 bestand aus vier, Gruppe 2 aus fünf Tieren, während die Gruppen 3 und 4 sowie die Kontrollgruppe (K) jeweils zwei Tiere umfaßten. Dabei wurde darauf geachtet, daß sich bei der Verteilung der Tiere auf die verschiedenen Gruppen etwa gleiche Durchschnittsgewichte ergaben.

Gruppe 1 und Gruppe 2 erhielten bei gleicher Tierzahl die zwei verschiedenen Aflatoxin B₁-Konzentrationen wie die entsprechenden Gruppen im Kälbermastversuch (s. Seite 41), während in Gruppe 3 Diacetoxyscirpenol zwei Tieren (männl. und weibl., Rasse Schwarzbunt) und in Gruppe 4 Sterigmatocystin (männl. und weibl., Rasse Pinzgauer) appliziert wurden.

Gebrauchslösung C setzte sich zusammen aus:

20 mg kristallines Sterigmatocystin (Makor Chemicals Ltd., Israel) + 2,0 ml DMF + 198,0 ml RAF;

Gebrauchslösung D enthielt:

20 mg kristallines Diacetoxyscirpenol (Makor Chemicals Ltd., Israel) + 2,0 ml DMF + 198,0 ml RAF.

Genaue Toxindosierungen siehe Tabelle 10.

Sie wurden wiederum tiefgefroren bei -20° C aufbewahrt und die davon täglich für die Applikation benötigten Mengen jeweils zuvor aufgetaut.

Tabelle 10: An Kälber der Gruppe 3 bzw. 4 pro Tag und Tier während der Aufzucht verabreichte Sterigmatocystin- bzw. Diacetoxyscirpenol-Mengen

Woche	Gebrauchs- lösung bzw. ml	C D	+ RAF ml	Sterigmatocystin- bzw. Diacetoxyscirpenol-Konzentration mcg
1.	0,2		+ 4,8	20
2.	0,4		+ 4,6	40
3.	0,6		+ 4,4	60
4.	0,8		+ 4,2	80
5.	1,0		+ 4,0	100
6.	1,2		+ 3,8	120
7.	1,4		+ 3,6	140
8.	1,6		+ 3,4	160
9.	1,8		+ 3,2	180
10.	2,0		+ 3,0	200

Die von diesen beiden Toxinen verabreichten Mengen entsprachen der höheren Aflatoxin B₁-Konzentration (vgl. Gruppe 2) des ersten Versuchs.

Die Kontrolltiere erhielten täglich jeweils 4,95 ml RAF + 0,05 ml DMF verabreicht.

Wie beim ersten Belastungsversuch wurden jedem Tier die Lösungen täglich vor der Morgentränke mit Hilfe von Einwegspritzen ohne Kanüle oral appliziert.

3.2.1.3. Hämatologisch, chemische und pathologisch-anatomische Untersuchungen

Die Bestimmungen des Blutstatus sowie die photometrische Bestimmung der Serumenzyme, des Bilirubins im Serum und des Kupfergehaltes in der Leber und im Futter, des Vitamin A-Gehaltes in Leber und Serum sowie die pathologisch-anatomischen Untersuchungen der Versuchstiere erfolgten unter Anwendung der gleichen Methoden wie beim Mastversuch (s.Seite 42). Lediglich auf die Durchführung von Leberbiopsien wurde verzichtet (s.Seite 44). Dagegen wurde nicht versäumt, Futtermittelkontrollen hinsichtlich des Gehaltes an Beimengungen der Aflatoxine durchzuführen.

3.2.2. Ergebnisse

3.2.2.1. Körpergewicht und mittlere Tageszunahme der Aufzuchtkälber

Wie aus Tabelle 11 zu entnehmen ist, zeigten die Kälber, denen die geringere Aflatoxin B₁-Menge appliziert wurde (Gruppe 1), eine durchschnittliche Gewichtszunahme von 42,25 kg sowie eine mittlere tägliche Zunahme von 0,528 kg, während die Tiere, die mit stärkeren Aflatoxin B₁-Konzentrationen belastet wurden (Gruppe 2), 37,4 kg bzw. 0,467 kg zugenommen hatten. Bei den Kälbern, denen

Sterigmatocystin bzw. Diacetoxyscirpenol verabreicht worden war (Gruppe 4 bzw. 3), konnte eine durchschnittliche Gewichtszunahme von 34 kg bzw. 45 kg beobachtet werden, entsprechend einer mittleren Tageszunahme von 0,425 bzw. 0,562 kg.

Auch hier lagen die Werte unterhalb der zu erwartenden Gewichtszunahmen von 0,700 kg pro Tier und Tag. Überraschenderweise hatten allerdings auch die Kontrolltiere (Gruppe K) nicht entsprechend an Gewicht zugenommen. Bei diesen lag die durchschnittliche Zunahme des Körpergewichts bei 40 kg, die mittlere Zunahme pro Tag belief sich auf 0,500 kg.

Tabelle 11: Tägliche und gesamte Körpergewichtszunahme von Aufzuchtkälbern, denen Aflatoxin B₁ (Gruppe 1 und 2), Diacetoxyscirpenol (Gruppe 3) bzw. Sterigmatocystin (Gruppe 4) verabreicht worden waren

Gruppe	Tier Nr.	Anfangsgewicht kg	Endgewicht kg	Zunahme kg	tägliche Zunahme kg
1	1	52,0	83,0	31,0	0,387
	2	54,0	104,0	50,0	0,625
	3	71,0	105,0	34,0	0,425
	4	60,0	114,0	54,0	0,675
2	5	67,0	109,0	42,0	0,525
	6	68,0	94,0	26,0	0,325
	7	68,0	106,0	38,0	0,475
	8	65,0	104,0	39,0	0,487
	9	63,0	105,0	42,0	0,525
3	12	54,0	93,0	39,0	0,487
	13	57,0	108,0	51,0	0,637
4	14	63,0	89,0	26,0	0,325
	15	66,0	108,0	42,0	0,525
K	10	54,0	102,0	48,0	0,600
	11	68,0	100,0	32,0	0,400

Gruppe	Ø Gewichts- zunahme kg	Ø Gewichts- zunahme tägl. kg
1	42,25	0,528
2	37,40	0,467
3	45,00	0,562
4	34,00	0,425
K	40,00	0,500

3.2.2.2. Blutstatus

Die Untersuchung des weißen Differentialblutbildes (vgl. Tabelle 12) zeigte außer einer bei allen Kälbern sowohl bei der Kontrollgruppe als auch bei den unter Mykotoxinbelastung stehenden Tieren vorkommenden geringgradigen bis mäßigen Lymphozytose keine von den Erfahrungswerten stark abweichenden Veränderungen. Der Hämatokrit-Wert war bei keinem Tier unter die von ROSENBERGER (1964) angegebenen Grenze von 24% gesunken, sondern sie blieben über die ganze Versuchsdauer im Bereich der Norm.

Veränderungen der Erythrozyten, wie Anisozytose, Poikilozytose, Oligochromasie sind bei allen Tieren in mehr oder weniger starkem Ausmaß nachgewiesen worden. Eine basophile Tüpfelung der Erythrozyten war hier nicht festzustellen. Die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BKS) zeigte bei allen Versuchstieren Normalwerte an.

Tabelle 12: Durchschnittswerte des differenzierten Blutbildes während des Kälberaufzuchtversuches

Blutkörperchen:	Gruppe 1					Gruppe 2					Gruppe K					Gruppe 3				Gruppe 4			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Kalb - Nr.							
Erythrozyten i. Mill. mm ³	7,3	7,2	8,5	9,7	10,5	9,6	10,3	7,7	9,0	9,1	7,4	7,7	11,6	7,3	7,7								
Leukozyten i. T. mm ³	10750	8200	8200	4450	9250	9250	7400	9250	12500	7450	4050	5700	7500	4050	7550								
Basophile	0,5	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-								
Eosinophile	1,5	-	-	1,5	2,5	3,0	0,5	-	0,5	2,0	0,5	6,0	5,0	0,5	4,0								
Jugendliche	0,5	1,0	-	1,0	1,0	1,0	-	-	-	1,5	0,5	1,0	0,5	1,5	-								
Stabkernige	2,5	1,0	1,5	2,0	2,5	-	0,5	1,5	-	1,0	1,5	3,0	2,0	1,0	-								
Segmentkernige	15,5	20,0	22,0	38,5	46,5	20,5	35,5	36,5	21,5	35,0	15,5	35,0	28,5	15,0	22,0								
Lymphozyten	74,5	78,0	76,5	55,0	43,0	72,5	63,5	61,0	77,0	59,0	80,0	54,0	63,5	79,5	72,0								
Monozyten	5,0	-	-	2,0	3,5	3,0	-	1,0	1,0	1,5	2,0	1,0	0,5	2,5	2,0								
Hämatokrit-Wert Wert in Vol. / %	37	45	36	37	38	36	36	40	46	41	37	36	39	37	38								

3.2.2.3. Serumenzyme und Gesamtbilirubin im Serum

Bereits in der zweiten Woche nach der Toxinapplikation zeigte sich bei den Versuchstieren sowie bei einem Kontrolltier eine Erhöhung in den Serum-enzymaktivitäten von SGOT, SGPT und LDH im Vergleich zu den vor der Toxinbelastung ermittelten Werten. Bei Kalb Nr. 3, Nr. 6, Nr. 8, Nr. 12 und Nr. 15 waren die Werte besonders hoch (s. Abb. 4 - 6). Nach zwei weiteren Wochen war bei der SGOT der höchste Anstieg zu verzeichnen, wobei der Wert des Kalbes Nr. 15 die Höhe von 1700 mU/ml erreichte. Vier Wochen vor Versuchsende waren die SGOT-Aktivitäten bei allen Tieren auf die Höhe von Normalwerten zurückgegangen und hielten sich bis zur zwölften Woche in diesem Bereich. Ein gleichartiges Ergebnis in der Höhe der Aktivitäten wurde auch bei der Bestimmung der SGPT während des Versuchs bei allen Kälbern mit Ausnahme von Kalb Nr. 1, wie aus der Abb. 5 zu entnehmen ist, erhalten.

Der Kurvenverlauf der gemessenen LDH-Aktivitäten zeigte die gleiche Tendenz, wie sie bereits bei SGOT und SGPT beobachtet werden konnten. Jedoch erfolgte ein deutlicher Anstieg der LDH erst zwei Wochen nach der Erhöhung der Werte der anderen beiden Enzyme. Höchstwerte wurden in der LDH-Aktivität hier bei fast allen Kälbern in der achten Woche gemessen. In der zehnten Woche war ein

Abfall der LDH-Werte zu verzeichnen. Niedrige Werte dieses Enzyms waren bei den Gruppen 1, 3 und 4 bis Versuchsende nachweisbar, während die LDH-Aktivitäten bei den Kälbern der Gruppe 2 wiederum einen Anstieg zeigten.

Die LDH-Aktivitäten der Kontrollgruppe zeigten weitgehende Übereinstimmungen mit den Meßergebnissen der Tiere mit Toxinbelastung. Kalb Nr. 10 wies mit 4390 mU/ml LDH einen ähnlich hohen Wert auf, wie die Kälber der Gruppen 3 und 4.

Die Werte für die alkalische Phosphatase blieben über die ganze Versuchsdauer im physiologischen Bereich. Für das Gesamt-Bilirubin im Serum konnte kein signifikanter Unterschied weder zwischen den einzelnen Gruppen noch zwischen den Wochen ermittelt werden.

Der Normwert für Gesamt-Bilirubin wird mit 0,146 mg % angegeben (KRAFT, 1964). ROSENBERGER (1964) gibt Werte unter 0,2 mg % als normalen Serumbilirubingehalt an. Die erste Untersuchung ergab einen stark erhöhten Serumbilirubingehalt, der sich im Versuchsverlauf zwischen 0,1 und 0,25 mg % bewegte.

Abb. 4: Graphische Darstellung der Serumenzym-Werte unter Belastung von Aflatoxin B₁ (Gruppe 1 und 2)

a) SGOT

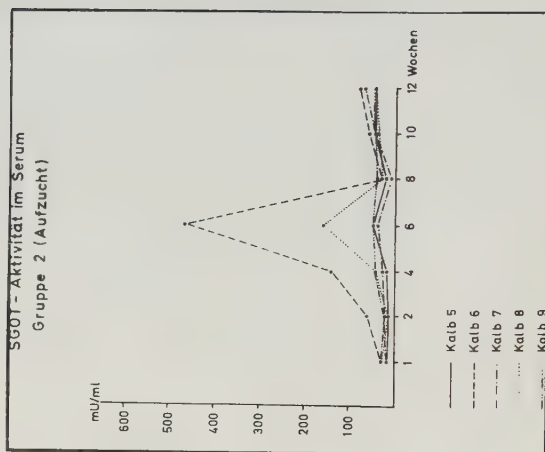
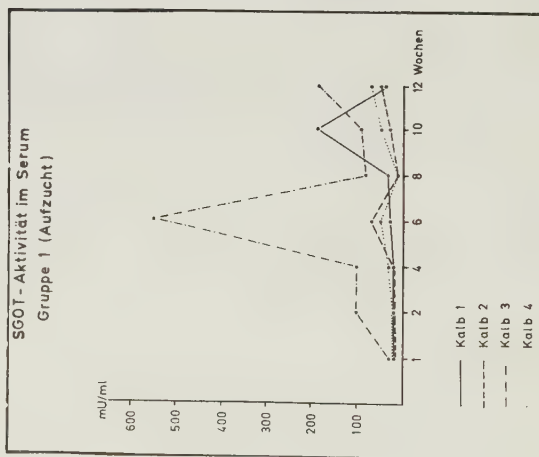


Abb. 5: Graphische Darstellung der Serumenzym-Werte unter Belastung von Diacetoxyscirpenol (Gruppe 3) und Sterigmatocystin (Gruppe 4) sowie bei der Kontrollgruppe

a) SGOT

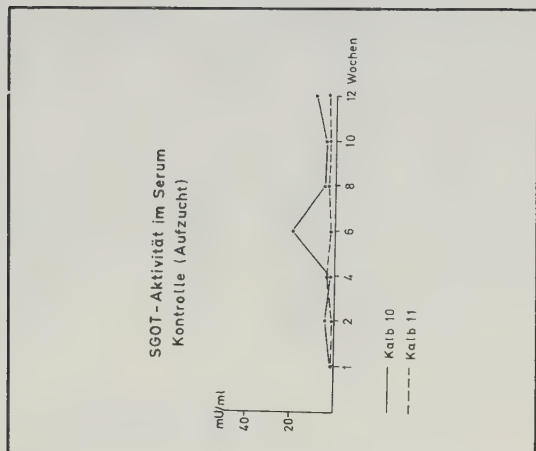
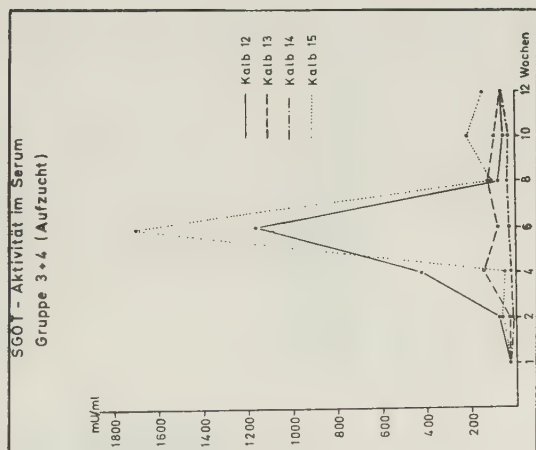


Abb. 6: Graphische Darstellung der Serumenzym-Werte unter Belastung von Aflatoxin B₁ (Gruppe 1 und 2)

b) SGPT

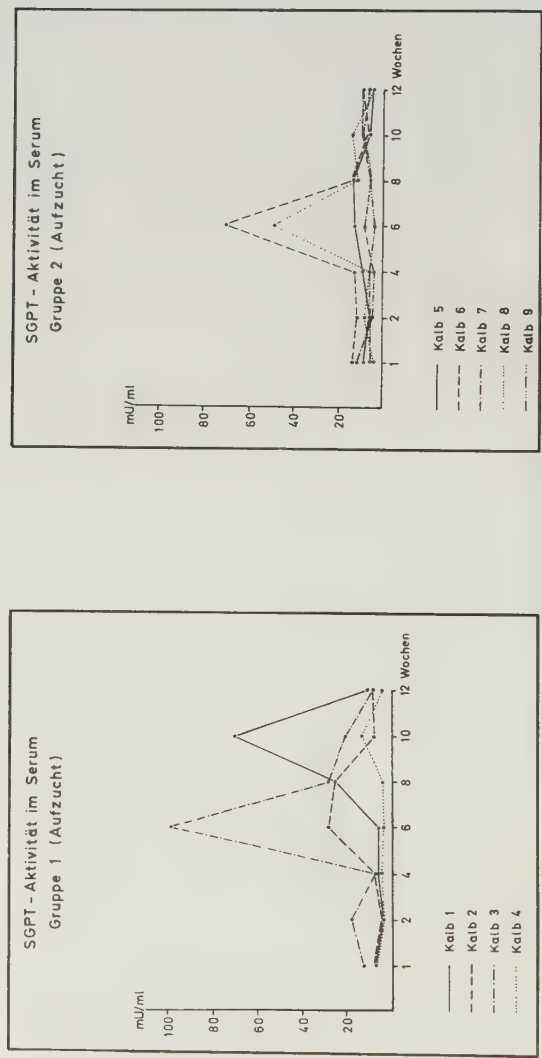


Abb. 7: Graphische Darstellung der Serumenzym-Werte unter Belastung von Diacetoxyscirpenol (Gruppe 3) und Sterigamtocystin (Gruppe 4) sowie bei der Kontrollgruppe

b) SGPT

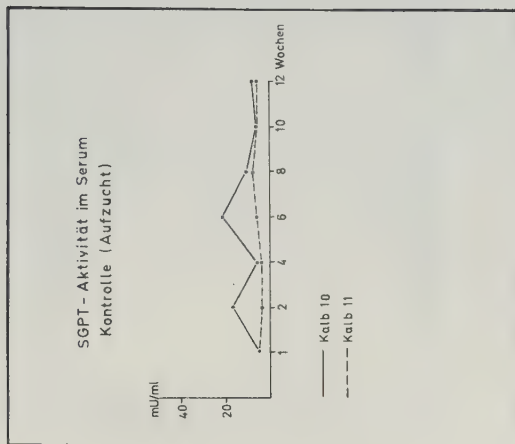
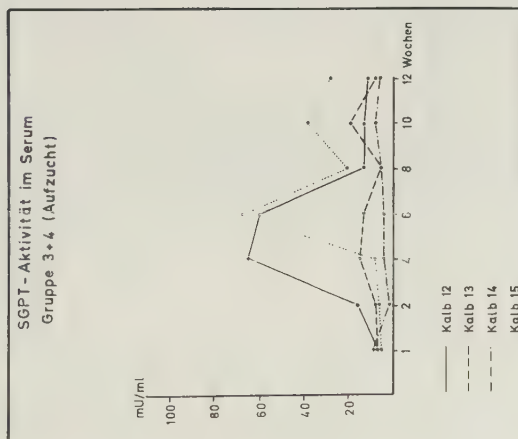


Abb. 8: Graphische Darstellung der Serumenzym-Werte und Belastung von Aflatoxin B₁ (Gruppe 1 und 2)

c) LDH

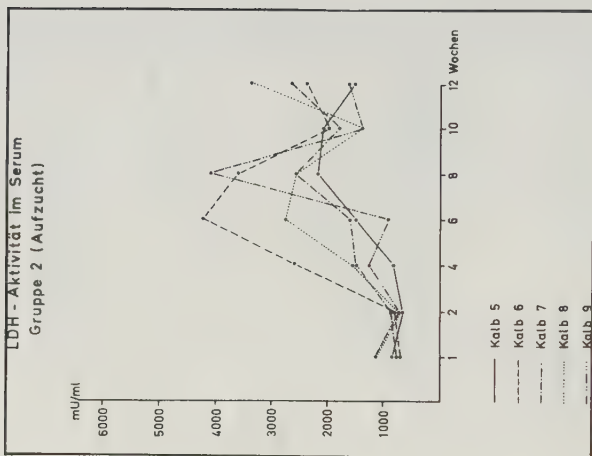
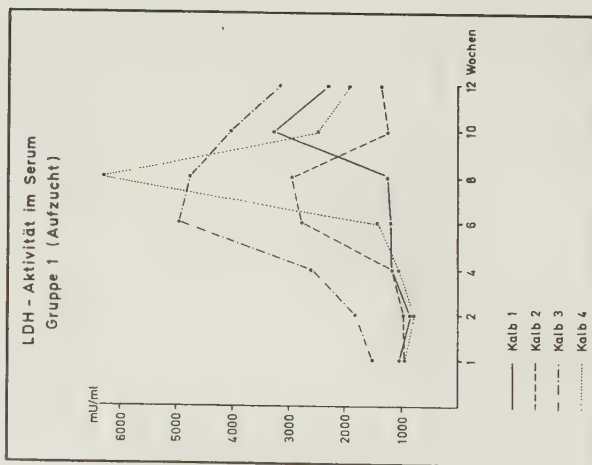


Abb. 9: Graphische Darstellung der Serumenzym-Werte unter Belastung von Diacetoxyscirpenol (Gruppe 3) und Sterigmatocystin (Gruppe 4) sowie bei der Kontrollgruppe

c) LDH

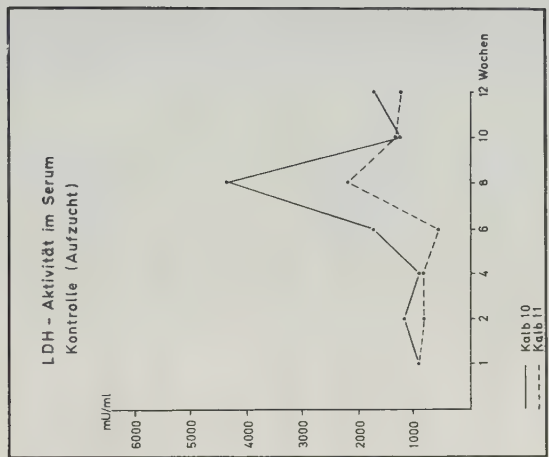
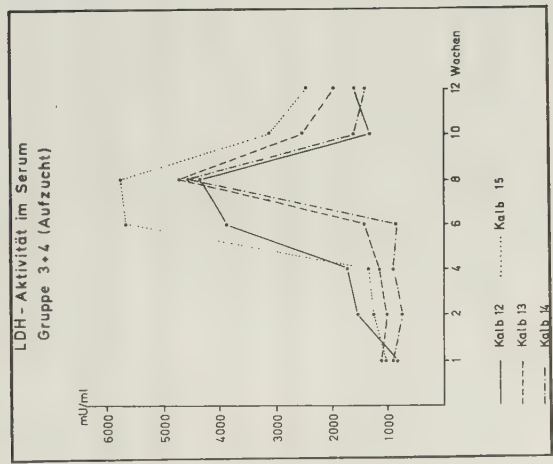


Tabelle 13: Ergebnisse der Überprüfung der Serumenzyme bei Aufzuchtkälbern, die unter Belastung von den Mykotoxinen Aflatoxin B₁, Sterigmatocystin und Diacetoxyscirpenol standen

Gruppe 1	Woche	Einzelwerte			
		SGOT	SGPT	LDH	alkalische Phosphatase
Kalb Nr. 1	1. ⁺	23	8	1042	12
	2. ⁺	21,4	4	840	6
	4.	21	6	1150	6
	6.	32	6	1190	6
	8.	30	25	1240	6
	10.	190	70	3250	6-12
	12.	40	11	2290	12
Kalb Nr. 2	1.	18	8	950	12
	2.	17,4	4	979	6
	4.	20	6	1150	6-12
	6.	70	28	2770	6
	8.	13	25	2960	6
	10.	34	8	1050	6-12
	12.	47	8	1150	12
Kalb Nr. 3	1.	35	13	1530	12
	2.	98	18	1810	6
	4.	100	6	2588	6
	6.	550	98	4960	6
	8.	78	28	4770	6
	10.	95	21	4000	12
	12.	190	8	2960	12

+ vor der Toxinapplikation

Fortsetzung Tabelle 13

Gruppe	Woche	Einzelwerte			
		SGOT	SGPT	LDH	alkalische Phosphatase
<u>Gruppe 1</u>	1. ⁺	18	8	1050	6-12
Kalb Nr. 4	2. ⁺	19	4	803	6
	4.	28	5	1050	6
	6.	53	4	1430	6-12
	8.	13	4	6299	6-12
	10.	47	13	2500	6-12
	12.	64	4	1910	6-12
<u>Gruppe 2</u>	1.	15,5	8	860	6-12
Kalb Nr. 5	2.	15	6	745	6
	4.	21	9	865	6
	6.	51	12	1546	6
	8.	23	13	2200	6
	10.	40	6	2100	12
	12.	47	4	1530	6-12
Kalb-Nr. 6	1.	26	12	760	6-12
	2.	57	11	860	6
	4.	144	12	2583	6-12
	6.	470	70	4228	6-12
	8.	36	13	3630	6-12
	10.	64	6	2000	12
	12.	83	8	2390	12
Kalb Nr. 7	1.	21	11	812	12
	2.	28	5	888	6
	4.	34	4	1530	6
	6.	42	8	1620	6
	8.	15	6	1580	6
	10.	49	8	1810	6-12
	12.	68	6	2670	6-12

+ vor der Toxinapplikation

Fortsetzung Tabelle 13:

Gruppe	Woche	Einzelwerte			
		SGOT	SGPT	LDH	alkalische Phosphatase
Gruppe 2	1. ⁺	23	4	1103	12
Kalb Nr. 8	2. ⁺	19	8	804	6
	4.	45	6	1558	6
	6.	161	6	2770	6
	8.	32	11	2580	6
	10.	36	13	1430	6
	12.	47	4	3440	6
Kalb Nr. 9	1.	25	5	1103	12
	2.	21	6	804	6
	4.	49	6	1290	6
	6.	42	4	950	6
	8.	42	6	4100	6
	10.	47	8	1430	6
	12.	42	8	1620	6-12
Gruppe 3	1.	21	7	812	12
Kalb Nr. 12	2.	74	15	1530	6
	4.	420	64	1720	6
	6.	1170	59	3910	6
	8.	78	13	4390	6
	10.	47	13	1340	6
	12.	55	11	1620	6-12
Kalb Nr. 13	1.	30	7	1150	12-22
	2.	20	8	1050	6
	4.	138	15	1180	6
	6.	78	13	1430	6
	8.	121	6	4770	6
	10.	93	19	2580	6
	12.	57	8	2000	6-12

+ vor der Toxinapplikation

Fortsetzung Tabelle 13:

Gruppe	Woche	Einzelwerte			
		SGOT	SGPT	LDH	alkalische Phosphatase
Gruppe 4	1. ⁺	21	8	950	12
Kalb Nr. 14	2. ⁺	12	2	760	3-6
	4.	21	4	950	6
	6.	25	4	860	6
	8.	38	6	4580	6
	10.	25	8	1620	6
	12.	64	6	1430	6-12
Kalb Nr. 15	1.	23	5	1050	6-12
	2.	57	6	1285	3
	4.	47	8	1359	6
	6.	1700	68	5700	6
	8.	108	21	5770	6
	10.	210	38	3150	6
	12.	140	28	2480	6
Kontroll-Gruppe K	1.	21	5	955	6-12
	2.	45	17	1169	6
Kalb Nr. 10	4.	28	6	917	6
	6.	190	21	1720	6
	8.	51	11	4390	6-12
	10.	47	6	1240	6
	12.	95	8	1720	6-12
Kalb Nr. 11	1.	17	5	915	12
	2.	11	4	844	6
	4.	30	4	860	6
	6.	25	6	570	6
	8.	38	8	2200	6-12
	10.	25	6	1340	6
	12.	32	6	1240	6-12

+ vor der Toxinapplikation

Tabelle 13a: Ergebnisse der Gesamt-Bilirubin-Bestimmung im Serum bei Aufzuchtkälbern, die unter Belastung von den Mykotoxinen Aflatoxin B₁, Sterigmatocystin und Diacetoxyscirpenol standen (in mg/%)

Kalb Nr.	Zahl der Untersuchungen						
	1	2	3	4	5	6	7
1	0,37	0,29	0,17	0,18	0,22	0,13	0,10
2	0,45	0,18	0,56	0,21	0,18	0,12	0,12
3	0,41	0,31	0,13	0,27	0,16	0,10	0,18
4	0,50	0,20	0,15	0,23	0,18	0,07	0,16
5	0,52	0,40	0,17	0,27	0,12	0,19	0,13
6	0,32	0,55	0,24	0,29	0,20	0,15	0,16
7	0,34	0,53	0,17	0,13	0,27	0,17	0,20
8	0,34	0,21	0,10	0,18	0,13	0,31	0,12
9	0,86	0,18	0,22	0,11	0,34	0,23	0,37
10	0,41	0,14	0,12	0,15	0,16	0,26	0,17
11	0,37	0,10	0,26	0,18	0,20	0,25	0,13
12	0,32	0,30	0,25	0,21	0,10	0,18	0,17
13	1,13	0,35	0,32	0,11	0,13	0,16	0,25
14	0,29	0,29	0,29	0,14	0,20	0,20	0,26
15	0,37	0,17	0,25	0,20	0,30	0,24	0,14

Tabelle 14: Statistische Auswertung der Serumenzym-Werte und des Gesamt-Bilirubins unter Belastung von Aflatoxin B₁, Sterigmatocystin und Diacetoxyascirpenol während der Aufzucht

Zweifache Varianz-Analyse (RENNER, 1970)					
Variations- ursache	SQ	FG	MQ	F	Signifi- kanz
Glutamat-Oxalazetat-Transaminase (GOT):					
Total	4 209 751,7	44	-	-	-
zwischen Gruppen	555 294,6	4	138 823,7	1,74	nicht signifik.
zwischen Wochen	623 851,5	2	311 925,8	3,91	-
innerhalb	3 030 605,5	38	79 752,8	-	-
Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT):					
Total	20 606,83	44	-	-	-
zwischen Gruppen	1 256,78	4	314,20	1	nicht signifik.
zwischen Wochen	3 316,94	2	1 658,48	3,93	-
innerhalb	16 033,11	38	421,92	-	-
Laktat-Dehydrogenase (LDH):					
Total	112 234 117,22	44	-	-	-
zwischen Gruppen	8 072 413,93	4	2 018 103,48	1,25	nicht signifik.
zwischen Wochen	42 891 707,81	2	21 445 853,90	13,30	-
innerhalb	612 969 995,48	38	1 612 368,30	-	-

Zweifache Varianz-Analyse (RENNER, 1970)					
Variations- ursache	SQ	FG	MQ	F	Signifi- kanz
	GESAMT-BILIRUBIN				
Total	0,30 124	44	-	-	-
zwischen Gruppen	0,01 384	4	0,00 346	1	nicht signifik.
zwischen Wochen	0,01 224	2	0,00 612	1	nicht signifik.
innerhalb	0,27 516	38	0,00 724	-	-

Zeichenerklärung:

SQ	=	Summenquadrat
FG	=	Freiheitsgrad
MQ	=	Mittleres Abweichungsquadrat
F	=	Fehler
p	=	Irrtumswahrscheinlichkeit

3.2.2.4. Kupfergehalt der Leber

In dieser Versuchsreihe wiesen die Lebern fast aller Tiere einen zum Teil stark erhöhten Kupfergehalt auf (s. Tabelle 16).

Der zur Aufzucht verwendete Milchaustauscher "Lactina-Milk 8" zeigte 30,3 mg/kg Trockensubstanz auf, das Starterfutter "Lactina-Korn" 37,0 mg/kg Trockensubstanz.

"Lactina-Korn" überstieg somit die angegebene Kupfermenge um 27 mg/kg Trockensubstanz.

Tabelle 16: Der Kupfergehalt in der Leber von Aufzucht-
kälbern nach zwölfwöchiger Mykotoxinverab-
reichung

Versuchs- gruppe	Leber der Kälber Nr.	Cu mg/kg TS	TS %
1	1	1360	26,2
	2	1059	26,8
	3	1676	25,8
	4	2537	26,7
2	5	353	27,6
	6	1065	26,9
	7	1460	27,1
	8	1086	27,2
	9	998	28,5
3	12	417	26,9
	13	1079	27,5
4	14	1330	26,9
	15	1056	27,8
K	10	1250	26,1
	11	1552	26,9

Zeichenerklärung: TS = Trockensubstanz

3.2.2.5. Vitamin A-Gehalt von Leber und Serum

Tabelle 17: Vitamin A-Gehalt in Leber und Serum von Aufzuchtkälbern am Ende des Mykotoxinbelastungsversuches

Gruppe	Kalb Nr.	I.E. Vit. A/100 ml Serum	I.E. Vit. A/g Leber
1	1	85	280
	2	102	239
	3	96	383
	4	68	521
2	5	85	223
	6	96	729
	7	88	308
	8	66	230
	9	89	184
3	12	75	261
	13	71	475
4	14	79	242
	15	92	193
K	10	89	255
	11	93	195

Der Vitamin A-Gehalt in der Leber sowie im Serum (s. Tabelle 17) war bei allen Aufzuchtkälbern stark erhöht. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen, noch im Vergleich zu den Kontrolltieren, festgestellt werden.

3.2.2.6. Pathologische Anatomie

Bei der Sektion zeigten sich keinerlei makroskopisch sichtbare Veränderungen. Versuchs- und Kontrolltiere waren ohne Befund.

Tabelle 18: Leber- und Nierengewichte (Aufzuchtversuch)

Gruppe	Kalb Nr.	Niere g	Leber g	Leber in % des Körpergewichts
1	1	252	1 308	1,5
	2	212	1 608	1,5
	3	200	1 427	1,3
	4	204	1 420	1,2
2	5	231	1 758	1,6
	6	230	1 357	1,4
	7	190	1 431	1,3
	8	248	1 562	1,5
	9	195	1 397	1,3
3	12	187	1 430	1,5
	13	105	1 505	1,4
4	14	181	1 256	1,4
	15	218	1 438	1,3
K	10	207	1 725	1,7
	11	184	1 434	1,4

Die histologische Fettdarstellung ergab in der Gruppe 1 keine positiven Ergebnisse. Neben einem geringgradigen intrazytoplasmatischen, lobulär begrenzten Glykogengehalt bei allen Tieren, sind Bereiche zu finden, in denen das bereits im Mastversuch beschriebene Kernglykogen in geringem Maße auftrat.

Bei den Kälbern Nr. 6, Nr. 7 und Nr. 8 (Gruppe 2), also bei Tieren, die eine höhere Aflatoxin B₁-Menge aufgenommen haben, waren Verfettungen irgendwelcher Art nicht zu finden. In den Kupfferschen Sternzellen war bei Kalb Nr. 7 und Nr. 9 geringgradig Eisen eingelagert. Bei den Kälbern Nr. 5 und Nr. 8 war Kernglykogen nicht nachzuweisen. Bei den übrigen Tieren trat das Kernglykogen in verstärktem Maße auf, was besonders bei Kalb Nr. 9 zum Ausdruck kam. Diese Tiere zeigten auch eine mittelgradige intrazytoplasmatische Glykogeneinlagerung in zahlreichen Läppchengruppen.

In der mit Diacetoxyscirpenol getesteten Gruppe 3 war nur bei Kalb Nr. 12 eine tropfige Verfettung der Kupfferschen Sternzellen zu sehen. Kernglykogen war nicht vorhanden, dagegen eine intrazytoplasmatische Glykogeneinlagerung, die bei Kalb Nr. 12 mittelgradig und in mehreren Läppchengruppen zu finden war, während sie sich bei Kalb Nr. 13 nur auf wenige Zellen beschränkte.

Bei der Gruppe 4 (Sterigmatocystin-Belastung) konnte bei beiden Kälbern in geringem Maße Kernglykogen beobachtet werden.

Bei allen vier Gruppen war eine kollagene Umbildung der Retikulinfasern oder eine Vermehrung von inter- und intralobulärem Bindegewebe nicht gegeben.

Die fortlaufend durchgeführten Kontrollen des Futters (Lactina-Milk 8 und Lactina-Korn) ergaben keinen Gehalt an natürlichem Vorkommen von Aflatoxinen. Eine Akkumulation von Aflatoxin B₁ und M₁ in der Leber belasteter Tiere war nicht zu verzeichnen, da die Tiere ausnahmslos ein negatives Ergebnis brachten.

Multiple, stecknadelkopfgröße bis linsengroße Ulcera im Pylorusbereich einiger Mastkälber waren die einzigen pathologisch-anatomischen Veränderungen, die die Sektion der Mast- und Aufzuchtkälber ergeben hatte. Die beim Kalb häufig anzutreffenden peptischen Labmagengeschwüre entwickeln sich in der Regel nach Verletzung der noch zarten Labmagenschleimhaut durch aufgenommene Rauhfutterteilchen (BONGERT und TANTZ, 1962). Den Mastkälbern wurden zwar zwischen den beiden Fütterungszeiten Plastikmaulkörbe angelegt, es konnte aber anscheinend nicht gänzlich vermieden werden, daß sie Stroh oder Einstreu aufnahmen. Den Aufzuchtkälbern fehlten dagegen derartige Ulcusbildungen im Labmagen, was auf die von der Mast abweichende Form der Ernährung mit einer relativ früh einsetzenden Vormagenverdauung zurückgeführt werden kann. Leberfibrosen, starke Vergrößerungen der Gallenblasen oder der Nebenniere, Ikterus, Ascites und viscerele Ödeme wie sie von ALLCROFT und LEWIS (1963) und LYNCH et al. (1970, 1971 und 1972) beschrieben worden sind, waren in der „im Vergleich zu der von diesen Autoren vorgenommenen Toxinbelastung weitaus geringeren Dosierung bei beiden Versuchen nicht feststellbar.

Neben dem unterschiedlichen Gehalt an Glykogen in den Lebern und im Zytoplasma bei beiden Versuchsreihen tritt Kernglykogen in verstärktem Maße bei

den Aufzuchtkälbern auf, während nur zwei Mastkälber der Gruppe 2 ebenfalls Kernglykogen in der Leber aufweisen. WEISS et al. (1967) finden Kernglykogen bei Mastkälbern nach Fütterungsversuchen mit verschiedenen Milchaustauschern und interpretieren dies im Sinne einer gewissen diätetisch bedingten Leberbelastung ohne klinische Symptome. WEISS (1965) zieht für die Bildung von Kernglykogen folgende Möglichkeiten in Betracht:

1. Im Kern gebildetes Glykogen wird dort infolge einer Störung seines Übertrittes in das Zytoplasma angereichert.
2. Im Zytoplasma oder an der Kernoberfläche gebildetes Glykogen tritt in den Kern über und reichert sich dort an.

Eine Störung der Kernwandpermeabilität ist demnach Voraussetzung für das Entstehen von Kernglykogen. Permeabilitätsstörungen sind bei pathologischen Zuständen in den Leberzellen des Menschen (LORENZ, 1954) und des Rindes (HOLTENIUS, 1963) offensichtlich vorhanden. Es liegt somit die Vermutung nahe, daß das hepatotoxische Aflatoxin B₁ eine solche Permeabilitätsstörung der Zellkernwand verursacht und die Kernglykogenbildung zustande kommen kann. Die zusätzliche Stoffwechselbelastung der Leber durch die Aufnahme von Rauhfutter bei den Aufzuchtkälbern (ROSENBERGER, 1970) mag das verstärkte Auftreten von Kernglykogen bei diesen Tieren im Gegensatz zu den Mastkälbern erklären.

In der Höhe der Serumenzymaktivitäten der beiden Versuchsreihen traten eklatante Unterschiede auf. Bei acht von neun Mastkälbern waren gleich zu Beginn der Toxinapplikation relativ hohe Aktivitäten von der LDH und bei drei Kälbern (Nr. 4, 7 und 10) auch von der SGOT meßbar. Für SGPT-Aktivitäten traf dies nicht zu. Statistisch ließ sich bereits nach der zweiten Untersuchung ein signifikanter Abfall der Anfangsenzymwerte nachweisen. An der fallenden Tendenz der SGOT und der LDH bei beiden Gruppen bis zum Versuchsende wird deutlich, daß die applizierten Mengen von Aflatoxin B₁ keine Aktivitätserhöhung dieser Enzyme, die als empfindliche Gradmesser für eine Zellzerstörung gelten, bewirken konnten. Die Werte für die alkalische Phosphatase lagen mit 22 BE in der vierten und der sechsten Woche noch im oberen Bereich der Norm, die von GERBER et al. (1973) mit 5 bis 25 BE angegeben wird. Dieses Ergebnis entspricht auch dem pathologisch-anatomischen Befund, der weder einen Gallenstau noch eine Vergrößerung der Gallenblasen ergeben hatte. Veränderungen dieser Art sind erst bei höheren Toxinkonzentrationen aufgetreten, wie es LYNCH und Mitarbeiter (1970, 1971 und 1972) bei der Verfütterung von 0,20 mg/kg Körpergewicht Aflatoxin B₁-kontaminiertem Futter bzw. von 0,08 bis 0,1 mg/kg reinem Aflatoxin B₁-Pulver beobachten konnten.

Die Serumenzymaktivitäten der Aufzuchtkälber zeigten dagegen ein anderes Bild. Zwei Wochen nach Beginn der Toxinapplikation war bei den Enzymen SGOT,

SGPT, bei der LDH erst nach weiteren zwei Wochen ein statistisch signifikanter Aktivitätsanstieg festzustellen. Vier Wochen vor Versuchsende war bei allen Enzymen eine fallende Tendenz zu beobachten. Der ausgeprägte Aktivitätsanstieg der SGOT, SGPT und LDH bei drei Kälbern (Nr. 3, 6 und 8), die unter Aflatoxin B₁-Belastung standen, ist ein Hinweis auf eine erhöhte Zellzerstörung. Beim Mastversuch konnten entsprechende Aktivitätserhöhungen nicht festgestellt werden. Ein Grund dafür kann neben der Giftwirkung einmal in der zusätzlichen Stoffwechselbelastung der Leber durch die Rauhfutteraufnahme bei Aufzuchtkälbern (ROSENBERGER, 1970) gesehen werden. Zum anderen fiel bei den Lebern der Aufzuchtkälber im Vergleich zu den Mastkälbern ein Kupfergehalt auf, der nach BAUR (1967) bereits als Hinweis auf eine Kupfervergiftung gelten kann. Der sehr hohe Kupfergehalt in den Lebern läßt sich auf die relativ hohe Kupfermenge, die im Milchaustauscher "Lactina-Milk 8" mit 30,3 mg/kg Trockensubstanz und im Starterfutter "Lactina-Korn" mit 37,0 mg/kg Trockensubstanz ermittelt wurde, zurückführen. BAUR (1967) sieht bereits Kupferkonzentrationen von über 30 ppm i. d. Trockensubstanz des Futters für Kälber als bedenklich an. Klinische Symptome einer Kupfervergiftung konnten nicht beobachtet werden. Jedoch stellt die überhöhte Kupferzufuhr für die Leber neben den Mykotoxinen eine zusätzliche Noxe dar, worauf die während dieses Versuchs erhöhten Serumaktivitäten zurückzuführen sein dürften. Dies erklärt auch die hohen LDH-Aktivitäten der beiden Kälber der Kontrollgruppe, wo das Kupfer die einzige Noxe darstellt. Während bei den mit Diacetoxyscirpenol belasteten Kälbern der Gruppe 3 und bei den mit Sterigma-

tocystin belasteten Kälbern der Gruppe 4 jeweils die LDH-Aktivitäten nahezu gleich hohe Werte erreichten, waren bei je einem Tier der beiden Gruppen (Kalb Nr. 12 und Kalb Nr. 15) auch gleichzeitig Aktivitätserhöhungen der SGOT und SGPT zu sehen, was dem Enzymmuster bei der Aflatoxin B₁-Belastung entspricht.

Ein Einfluß auf die morphologische Blutzusammensetzung durch die applizierten Mykotoxine konnte bei Mast- und Aufzuchtversuchen nicht gesehen werden. Die eindeutig vorliegende Anaemie der Mastkälber ist wahrscheinlich auf die niedrige Eisenversorgung über den Milchaustauscher zurückzuführen, denn die Zusammensetzung des Futtermittels gibt keinen Aufschluß über seinen Eisengehalt.

Der sehr hohe Vitamin A-Gehalt in den Leber- und Serumproben der Mast- und Aufzuchtkälber läßt auf eine gute Resorption aus dem Milchaustauscher und Starterfutter und eine ausreichende Vitamin A-Mobilisation aus der Leber schließen. Niedrige Aflatoxin-konzentrationen riefen in der Versuchszeit von zehn Wochen keine Verminderung des Vitamin A-Gehaltes in der Leber und im Serum hervor. Das entspricht den Ergebnissen von LYNCH et al. (1971), die nur eine signifikante Reduktion des Vitamin A-Gehaltes der Leber ab einer Dosis von 0,8 mg/kg Körpergewicht ermittelt haben, während niedrigere Dosen diesen Effekt nicht zeigten. Die während der Aufzucht

vergleichend verabreichten Toxine Sterigmatocystin und Diacetoxyscirpenol zeigten bei niedrigen Dosierungen ebenfalls keine Verminderung des Vitamin A-Gehaltes in der Leber und im Serum.

Das Milchaustauschfutter Lactina-Milk für die Kälbermast und der Milchaustauscher Lactina-Milk 8 für die Kälberaufzucht entsprachen in ihrer Zusammensetzung dem Standard der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft (DLG, 1969). Die durchschnittlichen täglichen Gewichtszunahmen während der Mast von 0,715 kg pro Tier innerhalb der Gruppe 1 mit der niedrigen Aflatoxin B₁-Belastung sowie von 0,697 kg pro Tier in der Gruppe 2 mit der höheren Aflatoxin B₁-Dosis lagen weit unter den von der Viehwirtschaft geforderten täglichen Zunahmen von etwa 1,300 kg pro Tier (KRÜGER und MEYER, 1968). Die durchschnittlichen täglichen Zunahmen bei der Kälberaufzucht bewegten sich ebenfalls unter dem angestrebten täglichen Gewichtszuwachs von 600 bis 700 g pro Tier nach dem DLG-Standard. Gruppe 1 mit den niedrigen Aflatoxin B₁-Dosen erreichten wiederum höhere durchschnittliche Zunahmen als die Gruppe 2 mit der höheren Aflatoxin B₁-Konzentration. Die geringste mittlere Zunahme war bei der Gruppe 4, der Sterigmatocystin appliziert worden war, zu verzeichnen. Die mit Diacetoxyscirpenol behandelte Gruppe 3 wies noch eine höhere mittlere Zunahme auf als die Kälber der Gruppe 1. Ein Kalb der Kontrollgruppe erreichte die durchschnittliche Tageszunahme von 600 g, während das andere im Durch-

schnitt 200 g pro Tag weniger zunahm. Den Milchaustauschern für die Mast und für die Aufzucht waren jeweils 80 mg/kg Chlortetracyclin zugesetzt. Der nutritive Effekt der Antibiotika-Zufütterung wurde u.a. von MÜLLER (1972) bei Mastkälbern untersucht, wonach die Kälber, denen ein Antibiotikum zugefüttert worden war, tägliche Gewichtszunahmen von über 1000 g erzielten, während die Kontrollgruppe ohne Antibiotikazusatz nur auf eine mittlere Tageszunahme von 823 g kam.

Die Mastkälber unter Aflatoxin B₁-Belastung erreichten eine noch geringere Tageszunahme. Die verminderten Gewichtszunahmen, die auch beim Aufzuchtversuch beobachtet worden sind, bestätigen die Ergebnisse u.a. von LYNCH und Mitarbeitern (1970, 1971, 1972), obwohl diese Autoren in den chronischen Belastungsversuchen absolute Toxinmengen von ca. 20 bis 80 mg/kg Körpergewicht bzw. 57,7 bis 280,1 mg/kg Körpergewicht verabreicht hatten. Im Vergleich dazu lag hier die absolute Toxinmenge in der Mast und in der Aufzucht bei 0,76 bzw. 7,6 mg/kg Körpergewicht pro Tier. Von besonderer Bedeutung ist jedoch die Tatsache, daß das Aflatoxin B₁ selbst in den niedrigen Konzentrationen, die ohne weiteres in den handelsüblichen Futtermitteln vorkommen können (GEDEK, 1972), noch schlechte Gewichtszunahmen hervorruft.

In ursächlichem Zusammenhang könnte eine durch Aflatoxin B₁ bedingte Hemmung der Protein-Synthese stehen (WOGAN, 1968). LYNCH und Mitarbeiter (1970, 1971, 1972) nahmen als Grund für verminderten Zuwachs eine erhöhte Freßunlust besonders bei Vorhandensein hoher Toxinkonzentrationen im Futter an. Bei den geringen Giftmengen der eigenen Versuche konnte dies jedoch nicht festgestellt werden.

Mit diesen Versuchen konnte gezeigt werden, daß mit den zulässigen Antibiotikazusätzen die Wirkung des Aflatoxin B₁ sowie des Sterigmatocystins und des Diacetoxyscirpenols nicht abgeschwächt werden kann, wie es SMITH und Mitarbeiter (1971) bei der Untersuchung von Möglichkeiten, die durch die Aflatoxikose bei Broilern hervorgerufene Mortalitätsrate einerseits und die verminderte Wachstumsrate und Gewichtszunahme andererseits, diätisch zu beeinflussen, beobachten konnten. Eine Erhöhung des Proteingehalts von 10% auf 30% sowie eine Steigerung des Fettanteils von 2% auf 16% im Futter reduzierte die Mortalitätsrate fast auf die Normhöhe. Eine Erhöhung der Gewichtszunahmen trat jedoch erst dann auf, wenn im Fett ein großer Anteil ungesättigter Fettsäuren vorhanden war. Aureomycin zeigte ebenfalls diese Wirkungen.

Untersuchungen über den Einfluß von Veränderungen der Futterzusammensetzung bezüglich des Eiweiß- oder Fettgehaltes an Ratten bei gleichzeitiger Aflatoxin B₁-Verabreichung wurden bereits von mehreren Autoren durchgeführt, wobei sie zu dem Ergebnis kamen, daß die Schädigungen durch Aflatoxin B₁ um

so größer waren, je geringer der Proteinanteil im Futter war (Mc LEAN und Mc LEAN, 1967; NEWBERNE et al., 1968 und TODD et al., 1968). Die im Milchaustauscher für die Mast und für die Aufzucht enthaltenen Proteinkonzentrationen sind vergleichsweise dazu nicht in der Lage, die oben beschriebenen Effekte zu erreichen.

Da aus wirtschaftlichen und finanziellen Gründen eine wesentliche Steigerung des Proteinanteils in den Milchaustauschern nicht möglich ist und zum anderen der Gehalt an Antibiotika im Futter nicht erhöht werden darf, muß daher ein völliges Freisein der Futtermittel von den hier untersuchten Mykotoxinen Aflatoxin B₁, Sterigmatocystin und Diacetoxyscirpenol gewährleistet sein, um eine optimale Gewichtszunahme seitens der Milchaustauscher in der Kälbermast und in der Kälberaufzucht zu erreichen.

Insgesamt 22 Kälber wurden in zwei Versuchsreihen während der Mast- und Aufzuchtperiode über einen Zeitraum von jeweils 10 Wochen mit den Mykotoxinen Aflatoxin B₁, Sterigmatocystin und Diacetoxyscirpenol belastet und die hepatotoxischen Wirkungen dieser Schimmelpilzgifte untersucht.

Im Mastversuch wurden die Tiere in zwei Gruppen eingeteilt und erhielten lediglich Aflatoxin B₁ in zwei verschiedenen Konzentrationen von 2 bis 20 mcg/Tier bzw. 20 bis 200 mcg/Tier und Tag. Im Aufzuchtversuch wurden neben dem Aflatoxin B₁, das so dosiert wurde wie im Mastversuch, außerdem noch Diacetoxyscirpenol und Sterigmatocystin ebenfalls in einer Konzentration von 20 bis 200 mcg/Tier und Tag getestet. Zwei Tiere erhielten zur Kontrolle lediglich das Lösungsmittel verabreicht.

Die Toxinmenge wurde wöchentlich gesteigert.

Während des Versuchs wurden jeweils in ein- bis zweiwöchentlichem Abstand die morphologische Blutzusammensetzung, das Verhalten der leberspezifischen Serumenzyme SGOT, SGPT, LDH sowie der alkalischen Phosphatase und des Gesamtbilirubins im Serum kontrolliert.

Nach der Schlachtung wurden die Lebern der Kälber auf ihren Cu-, Vitamin A- und Aflatoxin B₁-Gehalt hin überprüft. Die Tiere wurden auf pathologisch-anatomische Veränderungen und insbesondere Leber, Herz und Niere auch histologisch untersucht. Die Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Die morphologischen Blutuntersuchungen ergaben bei beiden Versuchsreihen keine Abweichungen von der Norm, die auf die Mykotoxin-Belastung zurückgeführt werden könnten.

2. Ein Leberparenchymschaden sowie ein dadurch hervorgerufener Anstieg der Aktivitäten der Transaminasen SGOT, SGPT und LDH konnte im Mastversuch während der Aflatoxin B₁-Belastung mit Konzentrationen von 2 bis 20 bzw. 20 bis 200 mcg/Tier und Tag nicht beobachtet werden. Die Werte für die alkalische Phosphatase bewegten sich im oberen Bereich der Norm.

Im Aufzuchtversuch war dagegen zwei Wochen nach Beginn der Toxinapplikation ein Aktivitätsanstieg der SGOT, SGPT und LDH zu verzeichnen, obwohl das Aflatoxin B₁ in der gleichen Konzentration appliziert worden war wie im Mastversuch. Die Transaminasen der Kälber, die Sterigmato-cystin bzw. Diacetoxyscirpenol erhalten hatten, zeigten ebenfalls einen deutlichen Aktivitätsanstieg. Die Werte für die alkalische Phosphatase sowie für das Gesamtbilirubin im Serum lagen im Bereich der Norm.

3. Der Kupfergehalt in der Leber im Aufzuchtversuch lag bei fast allen Tieren, auch bei den Kontrolltieren, weit über dem sogenannten "kritischen Wert" von 800 mg/kg Trockensubstanz. Ein Zusammenhang zwischen dem hohen Kupfergehalt in den Lebern und dem Aktivitätsanstieg der Transaminasen wurde diskutiert. Der Gehalt an Vitamin A in der Leber sowie im Blutserum blieb bei den Kälbern beider Versuchsreihen im Bereich der Normalwerte.

4. Auf die Mykotoxinbelastung zurückzuführende pathologisch-anatomische Veränderungen wurden nicht beobachtet. Das Vorkommen von Kernglykogen in den Leberzellen kann als Reaktion auf die chronische Belastung mit sehr geringen Mengen von Mykotoxinen gedeutet werden. Die Kälber beider Versuchsreihen zeigten lediglich ungenügende Gewichtszunahmen, wobei sich keine signifikanten Unterschiede in Abhängigkeit von der Art des applizierten Toxins bzw. von der Höhe der Dosierung ergaben.

5. Summary

The mycotoxins, aflatoxin B₁, sterigmatocystin and diacetoxyscirpenol, were oral given to 22 calves in two trials (breeding and fat stock) over a period of 10 weeks to examine the hepatotoxic effects.

During the fat stock period the animals were divided in two groups, and received oral doses of aflatoxin B₁, one group (4 calves) from 2 to 20 mcg/animal per day, the other one (5 calves) from 20 to 200 mcg/animal per day. During the breeding period the 9 calves received the same oral doses of aflatoxin B₁ as in the fat stock period and additionally 2 calves diacetoxyscirpenol and 2 calves sterigmatocystin in concentrations of 20 to 200 mcg/animal per day. 2 calves were retained and received no toxin as a matter of control. The toxin amounts were increased weekly.

The complete blood count, hematocrit, erythrocyte sedimentation rate, SGOT, SGPT, LDH, alkaline phosphatase and serum bilirubin were controlled during the experiments with intervals of one or two weeks.

The postmortem liver samples were analysed on the content of copper, vitamin A and aflatoxin B₁. The animals were examined for pathological anatomical changes with special histological emphasis on liver, heart and kidney.

The results of the tests were as follows:

1. No mycotoxic effects could be found in the complete blood count, hematocrit or erythrocyte sedimentation rate in both experiments.
2. It could be neither observed any damage of parenchymal liver cells nor any increase of the SGOT, SGPT and LDH in the first experiment (fat stock) at dose levels from 2 to 20 mcg and 20 to 200 mcg/animal and day resp.. The values of the alkaline phosphatase were in the upper norm. In the breeding experiment, however, two weeks after beginning the toxin application an increase of the SGOT, SGPT and LDH was observed, although the calves received the same concentration of aflatoxin B₁ as during the fat stock experiment. A considerable increase could also be noticed with calves having received sterigmatocystin or diacetoxyscirpenol resp.. Alkaline phosphatase and serum bilirubin showed normal values.
3. Liver copper storage was higher than the so called "critical point" of 800 mg/kg dry matter with all calves of the breeding experiment (including the ones having been retained for control). A connexion between the high liver copper storage and the increase of the enzyme activities was discussed. The content of vitamin A in liver and blood was normal in both experiments.

4. Gross lesions based on mycotoxic effects were not observed. The only histological change in the liver was the appearance of glycogen in the liver cell nuclei, which could be interpreted as a reaction of chronic exposure to low leveled mycotoxins. All calves of both experiments showed unsatisfactory gains of body weight but there were no significant differences between the different toxins, and the dose level of these applicated substances.

- Allcroft, R., 1965: Aspects of aflatoxicosis in farm animals. In *Mycotoxins in foodstuffs*, ed. G.N. Wogan, MIT Press, Cambridge, Massachusetts.
- Allcroft, R., and R.B.A. Carnaghan, 1963: Groundnut toxicity: An examination for toxin in human food products from animal fed toxic groundnut meal. *Vet.Rec.* 75, 259-263.
- Allcroft, R., and G. Lewis, 1963: Groundnut (meal) toxicity in cattle: Experimental poisoning of calves and a report on clinical effects in older cattle. *Vet.Rec.* 75, 487-494.
- Allcroft, R., H. Rogers, G. Lewis, J. Nabney and P.E. Best, 1966: Metabolism of aflatoxin in the sheep: Excretion of the "milk toxin". *Nature (Lond.)* 209, 154-155.
- Allison, A.C., and G.R. Paton, 1965: Chromosome damage in human diploid cells following activation of lysosomal enzymes. *Nature (Lond.)* 207, 1170-1173.
- Allison, A.C., and G.R. Paton, 1969: Lysosomes, chromosomes and cancer. *J. Biochem.* 115, 31-32.
- Annau, E., A.H. Corner, S.E. Magwoos and K. Jericho, 1964: Electrophoretic and chemical studies on sera of swine following the feeding of toxic groundnut meal. *Can. J. comp. Med. Vet. Sci.* 28, 264-269.

- Armbrecht, B.H., and O.G. Fitzhugh, 1964: Mykotoxins II. The biological assay of aflatoxin in peking white ducklings. *Toxicol.appl.Pharmacol.* 6, 421-426.
- Armbrecht, B.H., J.N. Galeta, W.T. Shalkop and C.G. Durbin, 1971: A subacute exposure of beagle dogs to aflatoxin. *Toxicol.appl.Pharmacol.* 18, 579-585.
- Ashley, L.M., J.E. Halver, W.K. Gardner Jr., and G.N. Wogan, 1965: Crystalline aflatoxin cause trout hepatoma. *Fed.Proc.* 24, 627.
- Banes, D., 1966: Food toxins of fungal origin, methodology and regulatory aspects. *J.Food Technol.* 20, 755-756.
- Barnes, J.M., and W.H. Butler, 1964: Carcinogenic activity of aflatoxin to rats. *Nature (Lond.)* 202, 1016-1017.
- Bassir, O. and F. Osiyemi, 1967: Biliary excretion of aflatoxin in the rat after a single dose. *Nature (Lond.)* 215, 882.
- Baur, P., 1967: Untersuchungen zur Ätiologie und Pathogenese einer durch Ikterus, Leberzirrhose und Leberdystrophie gekennzeichneten Kälberkrankheit. *Inaug.Diss.Med.Vet., Universität München.*

- Bernhard, W., C. Frayssinet, C. Lafarge et E. LeBreton, 1965: Lesions nucléolaires precoces provoquées per l'aflatoxine dans le cellules hepaticues des rats. Comp.Rend.Acad. Sci.261, 1785-1788
- Bösenberg, H., 1970a: Wirkung und Bedeutung der Mykotoxine. Zbl.Bakt.I. Orig. 212, 222-224
- Bösenberg, H., 1970b: Untersuchungen über den Nachweis von Aflatoxinen. Arzneimittelforschung 20, 1.Mitteil.1157-1167, 2.Mitteil.1521-1528.
- Bongert und Tantz, 1962, in Nieberle und P.Cohrs, 1962: in Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. 4.Aufl., Verlag G. Fischer, Stuttgart, S. 371
- BretonLe, E., C.Frayssinet, and J.Boy, 1962: Sur l'apparition d'hepatomes (spontanes) chez le rat Wistar. Role de la toxine de l'Aspergillus Flavus interet en pathologie humaine et cancerologie experimentale. Compt.rend.Acad.Sci. (Paris) 255, 784-786
- Brody, S., 1958: Deoxyribonuclease activity and deoxyribonucleic acid synthesis in normal, regenerating, precancerous liver. Nature (Lond.) 182, 1386-1387
- Brown, J.M.M., 1965: Symp. Mycotoxins Foodstuffs, Agr. Aspects, Univ.Pretoria, February pp.33-46. Ind.Res.Develop.Div., Council Sci.Ind.Res., Dept. Agr.Tech.Serv., Pretoria
- Brown, J.M.M., and L. Abrams, 1965: Biochemical studies on aflatoxicosis. Understepoort. J. Vet. Res. 32, 119-146

- Burt, D.H., and T.P. Brent, 1971: A doxyribo-
nuclease activity of Hela-cells specific for UV-
irradiated DNA. Biochem.Biophys.Res.Commun.
43, 1382-1387.
- Butler, W.H., 1964: Acute liver injury in ducklings
as a result of aflatoxin poisoning. J.Path.Bact.
88, 189-196.
- Butler, W.H., 1964: Acute toxicity of aflatoxin B₁ in
the rat. Brit.J.Cancer 18, 756-762.
- Butler, W.H., 1964: Liver injury and aflatoxin. In:
G.N. Wogan: Mycotoxins in foodstuffs. M.I.T.
Press, Cambridge, Mass. 1965, 175-186.
- Butler, W.H., 1966a: Early hepatic parenchymal changes
induced in the rat by aflatoxin B₁. Am.J.Path.
49, 113-119.
- Butler, W.H., 1966b: Acute toxicity of aflatoxin B₁
in guinea pigs. J.Path.bacteriol. 91, 277-280.
- Butler, W.H., 1969: Aflatoxicosis in laboratory animals.
In Goldblatt: Aflatoxine. Academic Press, New York
and London, 223-236.
- Butler, W.H., 1970: Liver injury induced by aflatoxin.
Progr.Livers.Dis. 3, 408-418.
- Butler, W.H., and J.M. Barnes, 1964: Toxic effects
of groundnut meal containing aflatoxin to rats and
guinea pigs. Brit.J.Cancer 17, 699-710.

- Butler, W.H., and J.M. Barnes, 1966: Carcinoma of the glandula stomach in rats given diets containing aflatoxin. *Nature (Lond.)* 209, 90.
- Butler, W.H., and J.I. Clifford, 1965: Extraction of aflatoxin from rat livers. *Nature (Lond.)* 206, 1045-1046.
- Calvet, H., R. Boudergnes, E. Discacciate et M. Cliche, 1966: Note préliminaire sur les effets expérimentaux de l'aflatoxine chez les bovins tropicaux. Effets de l'aflatoxine sur la vache laitière et sur le jeune nourri à la mamelle. *Rev.Elevage Med.Vet.Pay.Trop.* 19, 545-565.
- Carnaghan, R.B.A., 1965: Hepatic tumors in ducks fed a low level of toxic groundnut meal. *Nature (Lond.)* 208, 308.
- Carnaghan, R.B.A., R.D. Hartley and J. O' Kelly, 1963: Toxicity and fluorescence properties of the aflatoxins. *Nature (Lond.)* 200, 1101.
- Carnaghan, R.B.A., G. Lewis, D.S.P. Patterson and R. Allcroft, 1966: Biochemical and pathological aspects of groundnut poisoning in chickens. *Path. Vet.* 3, 601-615.
- Childs, E.A., J.C. Ayres and P.E. Koehler, 1972: Aflatoxin B₁ effects on rainbow trout liver chromatin. *Biochem.Pharmacol.* 21, 3053-3057.

- Clegg, F.G. and H. Bryson, 1962: An outbreak of poisoning in store cattle attributed to brasilian groundnut meal. Vet.Rec. 74, 992-994.
- Clifford, J.I., and K.R. Rees, 1966a: Biochemical changes in the endoplasmic reticulum in liver injury. J.Path.Bact. 91, 215-222.
- Clifford, J.I., and K.R. Rees, 1966b: Aflatoxin: A site of action in the rat liver cell. Nature (Lond.) 209, 312-313.
- Clifford, J.I., and K.R. Rees, 1967a: The action of aflatoxin B₁ on the rat liver. J.Biochem. 102, 65-75.
- Clifford, J.I., and K.R. Rees, and M.E.M. Stevens, 1967: The effect of the aflatoxin B₁, G₁ and G₂ on protein and nucleic acid synthesis in rat liver. J.Biochem. 103, 258-261.
- Cordonnier, C., and G. Bernardi, 1968: A comparative study of acid DNA-ase extracted from different tissues and species. Can.J.Biochem. 46, 989-995.
- Dalezios, J.I., and G.N. Wogan, 1972: Metabolism of aflatoxin B₁ in rhesus monkeys. Cancer Res. 32, 2297- 2303

Dalezios, J.I., G.N. Wogan and S.M. Weinzeb, 1971:
Aflatoxin P₁: A new aflatoxin metabolite in monkeys. Science 171, 548-585.

Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft, 1969: Fütterungshinweise für Rinder, Schweine, Geflügel. Futter- und Grünlandabteilung DLG, 4. Aufl. 55-57.

Dickens, F., and H.E.H. Jones, 1964: The carcinogenic action of aflatoxin after its subcutaneous injection in the rat. Brit.J.Cancer 17, 691-698.

Edwards, G.S., and G.N. Wogan, 1968: Acute and chronic toxicity of rubratoxin in rats. Fed.Proc. 27, 552.

Edwards, G.S., G.N. Wogan, M.B. Spron and R.S. Pong, 1971: Structure- activity relationships in DNA binding and nuclear effects of aflatoxins and analogs. Cancer Res. 31, 1943-1950.

Enomoto, M., and M. Saito, 1972: Carcinogens produced by fungi, Am.Rev.Microbiol. 26, 279-306.

Frank, H.K., 1969: Die Bedeutung der Mykotoxine für die Lebensmittelindustrie. Alimenta 8, 674

Frayssinet, C., C. Lafarge, A.M. DeRecondo et E. LeBreton, 1964: Inhibition de l'hypertrophie compensatrice du foie chez le rat par les toxines d'*Aspergillus flavus*. Compt.rend.Acad.Sci.259, 2143-2146.

- Friedmann, M.A., and G.N. Wogan, 1966: Enzyme induction and nuclear RNA metabolism in rat liver. Fed.Proc. 25, 662.
- Garner, R.C., E.C. Miller and J.A. Miller, 1972: Liver microsomal metabolism of aflatoxin B₁ to a reactive derivate toxic to Salmonella typhimurium TA 1530. Cancer Res. 32, 2058-2066.
- Garret, W.N., H. Heitmann jr. and A.N. Booth, 1968: Aflatoxin toxicity in beef cattle. Proc. Soc. exper. Biol. Med. 127, 188-190.
- Gedek, B., 1967: Pilzkrankheiten während der Aufzucht. Tierärztl. Umsch. 22, 149-153.
- Gedek, B., 1969: Zur Bedeutung von Mykotoxinen. Die blauen Hefte für den Tierarzt 41, 32-38.
- Gedek, B., 1972: Biologischer Nachweis von Mykotoxinen, Zbl. Vet. Med. B, 19, 15-32.
- Gedek, B., und H. Hofmann, 1970a: Tierexperimentelle Untersuchungen zur hepatotoxischen Wirkung von Schimmelpilzgiften. 1. Mitteil. Akute Veränderungen beim Meerschweinchen. Zbl. Vet. Med. B, 17, 658-666.
- Gedek, B., und H. Hofmann, 1970b: Tierexperimentelle Untersuchungen zur hepatotoxischen Wirkung von Schimmelpilzgiften. 2. Mitteil. Chronische Veränderungen beim Meerschweinchen. Zbl. Vet. Med. B, 17, 667-676.

Gelboin, H.V., J.S. Wortham, R.G. Wilson, M.A. Friedmann and G.N. Wogan, 1966: Rapid and marked inhibition of rat liver RNA polymerase by aflatoxin B₁. Science 154, 1205-1206.

Gerber, H., J. Martig und R. Straub, 1973: Enzymuntersuchungen im Serum von Großtieren im Hinblick auf Diagnose und Prognose. Tierärztl. Praxis 1, 5-18.

Goldblatt, C.A., 1969: Aflatoxin, Academic Press, New York - London.

Gopalan, C., P.G. Tulpule and D. Krishna-Murthi, 1972: Induction of hepatic carcinoma with aflatoxin in the rhesus monkey. Food Cosmet. Toxicol. 10, 519-521.

Hill, K.R., 1963: Comment on the histological appearances in serial liver biopsies and postmortem specimens. Vet. Rec. 75, 493-494.

Holtenius, P., 1963: On the occurrence of intranuclear PAS-positive material in liver cells of cattle. Cornell. Vet. 53, 322-327.

Holzapfel, C.W., J.F.H. Purchase, P.S. Steyn and L. Gouws, 1966: The toxicity and chemical assay of sterigmatocystin a carcinogenic mycotoxin and its isolation from two new fungal sources. Afr. med. J. 40, 1100-1101.

Howard-Flanders, P., 1968: DNA repair.

Ann.Rev.Biochem. 37, 175-200.

HSI-Tang Tung, W.E. Donaldsen and P.B. Hamilton,

1972: Altered lipid transport during aflatoxicosis.

Toxicol.appl.Pharmacol 22, 97-104.

Hurter, L.R. 1966: Some field observations on aflatoxi-
cosis in the Potgietersrus veterinary area.

J.S.Afr.Vet.Méd.Ass. 37, 77-78.

Iongh De, H., O.R. Vles and J.G. Van Pelt, 1964:

Milk of mammals fed aflatoxin containing diet.

Nature (Lond.) 202, 466-467.

Karlson P., 1967: Kurzes Lehrbuch der Biochemie,

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S. 109-117.

Kempff, G.K., M.J. Pitout and J.J. van der Watt,

1973: The long-term influence of sterigmatocystin
on mouse and rat liver nuclear deoxyribonucleases.

Biochem.Pharmacol. 22, 2490-2492.

Kraft, H., 1964: Labormethoden der Veterinärmedizin

bei Haussäugetieren. 2. Aufl. Leik-Druck, Kelheim.

- Krogh, P., B. Hald, E. Hasselager, A. Madsen,
H.P. Mortensen, A.E. Larsen and A.D. Cambell,
1970: Restkoncentrationer af aflatoksin i svin
fodret med aflatoksinholdigt foder. Landøkonomisk
Forsøgslaboratorius efterarsmøde, Arborg, 84.
- Krüger, L. und F. Meyer, 1968: Aufzucht und Mast
des Rindes. DLG-Verlag GmbH, Frankfurt/Main,
56-58.
- Lafarge, C., C. Frayssinet et de Recondo, A.M.
1965: Inhibition par l'aflatoxine de la synthese
de RNA hepatique chez le rat. Bull.Soc.Chim.
Biol. 47, 1724-1725.
- Lancaster, M.C., 1968: Comparative aspects of
aflatoxin-induced hepatic-tumors. Cancer Res. 28,
2288-2292.
- Lancaster, M.C., F.T. Jenkins and J.McL. Philp,
1961: Toxicity associated with certain samples
of groundnuts. Nature (Lond.) 192, 1095-1096.
- Lehmann, J.R. 1967: Deoxyribonucleases: Their
relationship to deoxyribonucleic acid synthesis.
Ann.Rev.Biochem. 36, 645-668.
- Loosmore, R.M., and L.M. Markson, 1961: Poisoning
of cattle by Brazilian groundnut meal. Vet.Rec.
73, 813.
- Lorenz, S., 1954: Über das Kernglykogen der Leber.
Zbl.allg.Path. 92, 437-443.

- Lynch, G.P., G.C. Todd, W.T. Shalkop and L.A. Moore, 1970: Responses of dairy calves to aflatoxin contaminated feed. *J. Dairy Sci.* 53, 63-71
- Lynch, G.P., W.T. Shalkop, N.M. Jacoby, D.F. Smith and R.W. Miller, 1971: Responses of dairy calves to oral doses of aflatoxin. *J. Dairy Sci.* 54, 1688-1698
- Lynch G.P., F.T. Covey, D.F. Smith and B.T. Weinland, 1972: Responses of calves to a single dose of aflatoxin. *J. Animal Sci.* 35, 65-68
- Lynd, J.Q. and F.T. Lynd, 1970: Hepatic cholesterol and lipid anomalies induced by aflatoxin. *Path. vet.* 7, 509-516
- Masri, M.S. Lundin, R.E. Page, J.R. and Garcia V.C., 1967: Crystalline aflatoxin M₁ from urine and milk. *Natur (Lond.)* 215, 753-755
- McLean, A.E.M., und E.K. McLean, 1967: Protein depletion and toxic liver injury due to carbon tetrachloride and aflatoxin. *Proc. Nutr. Soc.* 26, XIII
- Moore, J.H., and B. Truelove, 1970: Ochratoxin A. Inhibition of mitochondrial respiration. *Science* 168, 1102-1103
- Moulè, Y., and C. Frayssinet, 1972: Enzymic conversion of aflatoxin B₁ to a derivative inhibiting in vitro transcription. *FEBS-Letters* 25, 52-56
- Müller, C-D., 1972: Vergleichende Untersuchungen über den nutritiven Effekt von Percrison, Flavomycin und Streptoxanthin in der Kälbermast unter kontrollierten Umweltbedingungen. *Vet. Med. Diss. Univ., München.*

- Nel, W., P.G. Kempff and M.J. Pitout, 1970:
The metabolism and some metabolic effects
of sterigmatocystin. Symp.on Mycotoxins in
Human Health, Pretoria, Southafrica, 2.-4.
Sept.
- Neumann-Kleinpaul, A., und G. Terplan, 1972:
Vorkommen von Aflatoxin M₁ in Trockenmilch-
produkten.
- Newberne, P.M., G.N. Wogan, W.W. Carton and
M.M. Abdel-Kader, 1964: Histopathologic lesions
in ducklings caused by *Aspergillus flavus* cultures,
culture extracts and crystalline aflatoxins,
Toxicol.appl.Pharmacol. 6, 542-556.
- Newberne, P.M., G.N. Wogan, and A. Hall, III:
1968: Effects of dietary modifications on response
of the duckling to aflatoxin. J.Nutr., 90, 123-130.
- Patterson, D.S.P., and R. Allcroft, 1970: Metabolism
of aflatoxin in susceptible and resistant animal
species. Food.cosmet.Toxicol. 8, 43.
- Patterson, D.S.P., and B.A. Robert, 1970: The
formation of aflatoxins B_{2a} and G_{2a} and their
degradation products during the in vitro de-
toxification of aflatoxin by livers of certain
avian and mammalias species. Food.cosmet.
Toxicol. 8, 527.

- Patterson, D.S.P., and B.A. Roberts, 1972:
Aflatoxin metabolism in duck liver homogenates.
The relative importance of reversible Cyclopentenone reduction and Hemiacetal formation. Food Cosmet. Toxicol. 10, 501-512.
- Peckham, J.C., B. Doupnik, O.H. Jones, 1971:
Acute toxicity of Ochratoxins A and B in chicks. Appl. Microbiol. 21, 492-494.
- Pitout, M.J., 1968: Toxicol. appl. Pharmacol. 13, 299-306.
- Pitout, M.J., 1970: Biochemical studies on Ochratoxin A. Symp. on Mycotoxins in Human Health, Pretoria, South Africa, 2.-4. Sept.
- Pitout, M.J., Hazel A. Mc Gee and J.C. Schabort, 1970: The effect of aflatoxins B₁, B₂ and sterigmatocystin on nuclear deoxyribonucleases from rat liver. Symp. on Mycotoxins in Human Health, Pretoria, South Africa, 2.-4. Sept.
- Pitout, M.J., H.A. Mc Gee and J.C. Schabort, 1971: The effect of aflatoxin B₁, aflatoxin B₂ and sterigmatocystin on nuclear deoxyribonucleases from rat and mouse livers. Chem. Biol. Interactions, 3, 353-361.
- Pitout, M.J., J.J. van der Watt, P.G. Kempff, J. Dijkstra and J.C. Schabort, 1973: The effects of aflatoxin B₁ and aminoazodye carcinogens on rat and mouse liver nuclear acid deoxyribonuclease. Chem. Biol. Interactions, 6, 227-235.

- Pong, R.S. and G.N. Wogan, 1968: Effects of aflatoxin B₁ on rat liver polyribosome profile. Fed.Proc. 27, 552.
- Pons, W.A.J.v., A.F. Cucullu, L.S. Lee, J.A. Robertson, A.O. Franz and L.A. Goldblatt, 1966: Determination of aflatoxins in agricultural products: Use of aqueous acetone for extraction. J.Ass.off. analyt.Chem. 49, 554-562.
- Purchase, I.F.H., and W. Nel, 1967: Recent advances in research on ochratoxin. Part 1, Toxicological aspects, In R.I. Mateles and G.N. Wogan, Biochemistry of some foodborne microbial toxins. M.I.T. Press, Cambridge, Mass. pp. 153-156.
- Purchase, I.F.H., and J.J. Theron 1968: Acute toxicity of ochratoxin A to rats. Food cosmet. Toxicol. 6, 479-483.
- Purchase, I.F.H., and J.H. van der Watt, 1968: Carcinogenicity of sterigmatocystin. Food.cosmet. Toxicol. 6, 555-556.
- Purchase, I.F.H., and J.J. van der Watt, 1969: Acute toxicity of sterigmatocystin to rats. Food. cosmet.Toxicol. 7, 135-139.
- Purchase, I.F.H., and J.J. van der Watt, 1971: The long-term toxicity of ochratoxin A to rats. Food cosmet.Toxicol. 9, 681-682.

- Rao, S.K., 1971: Aflatoxin B₁ induced inhibition of liver protein synthesis in vivo and its role in fatty liver. *Biochem. Pharmacol.* 20, 2815-2831.
- Recondo de, A.M., C. Frayssinet, C. Lafarge and E. LeBreton, 1965: Inhibition de la synthèse du DNA par l'aflatoxine B₁ au cours de l'hypertrophie compensatrice du foie chez le rat. *Compt. rend. Acad. Sci., Paris*, 261, 1409-1412.
- Recondo de, A.M., C. Frayssinet, C. Lafarge and E. LeBreton, 1966: Action de l'aflatoxine sur le métabolisme du DNA au cours de l'hypertrophie compensatrice du foie après hépatectomie partielle. *Biochem. Biophys. Acta* 119, 332-330.
- Renner, E., 1970: Mathematisch-statistische Methoden in der praktischen Anwendung. Paul Parey Verlag, Berlin - Hamburg.
- Richard, J.L., A.C. Piers, S.J. Cysweski and C.K. Graham, 1973: Effect of aflatoxin and aspergillosis on turkey poults. *Avian Dis.* 17, 111-121.
- Roberts, J.J. 1969: The binding of metabolites of 4-dimethylaminoazobenzene and 2-methyl-4-dimethylaminobenzene to hooded rat neocortical cells during chronic feeding, in E.D. Bergmann and B. Pullmann (EDS). *Physio-Chemical Mechanism of Carcinogenesis*, Academic Press, New York, S. 229.

- Robert, J.J., and G.P. Warwick, 1966: The covalent binding of metabolites of dimethylaminoazobenzene, -kaphthylamine and aniline to nucleic acids in vivo. Intern.I.Cancer. 1, 179-196.
- Rogers, A.E. and P.M. Newbern, 1967: The effects of aflatoxin B₁ on dimethylsulfoxide on thymidine-³H uptake and mitosis in rat liver. Cancer Res. 27, 855-864.
- Rogers, A.E., N.S. Kula and P.M. Newbern, 1971: Absence of an effect of partial hepatectomy on aflatoxin B₁ carcinogenesis. Cancer Res. 31, 491-495.
- Rosenberger, G., 1964: Die klinische Untersuchung des Rindes. Paul Parey Verlag, Berlin-Hamburg, S. 140-144
- Rosenberger, G., 1970: Krankheiten des Rindes. Paul Parey-Verlag, Berlin-Hamburg
- Salmon, W.D., and P.M. Newberne, 1963: Occurence of hepatomas in rats fed diets containing peanut meal as a major source of protein. Cancer Res. 23, 571-575.
- Sarasin, A., and Y. Moulé, 1973: In vivo effect of aflatoxin B₁ on protein synthesis in rat liver. FEBS-Letters, Vol. 29, 3, 329-332.
- Sargeant, K., J. O' Kelly, R.B.A. Carnaghan and R. Allcroft, 1961a: The assay of a toxic principle in certain groundnut meals. Vet.Rec. 73, 1219-1222

- Sargeant, K., A. Sheridan, J.O' Kelly and R.B.A.
Carnaghan, 1961b: Toxicity associated with certain samples of groundnuts. *Nature (Lond.)* 192, 1096-1097.
- Schabort, J.C., 1969: The differential interaction of aflatoxins B₁, G₁ und G₂ with deoxyribonucleic acids from different sources. *J.S.A.Chem.Inst.*, XXII, 80-87.
- Schabort, J.C., and M. Steyn, 1969: Substrate and phenobarbital inducible aflatoxin-4hydroxylation and aflatoxin metabolism by rat liver microsomes. *Biochem. Pharmacol.* 18, 2241-2252.
- Schjelderup, A., P. Zarius and J. Smith-Kielland, 1972: Repair replication in different strains of *E. coli* after treatment with alkalyting agents and its dependence on protein synthesis. *Biochem.Biophys.Acta* 262, 269-274.
- Schmidt, F.W., und E. Schmidt, 1969: Praktische Enzymdiagnostik, Enzym-Fiebel, Fa.-C.F. Boehringer, und Söhne GmbH, Mannheim, Biochemica.
- Schoenthal, R. 1967: Aflatoxins. *Ann.Rev.Pharmacol.* 7, 350-351.
- Shank, R.C., and G.N. Wogan, 1965: Distribution and excretion of C¹⁴-labeled aflatoxin B₁ in the rat. *Fed.Proc.* 24, 627
- Simhuber, R.O., J.H. Wales, R.H. Engebrecht, D.F. Amend, W.D. Kray, J.L. Ayres, and W.E. Ashston, 1965: *Fed.Proc.* 24, 627

- Smith, R.H., 1963: The influence of toxins of *aspergillus flavus* on the incorporation of C¹⁴ leucine into proteins. *Biochem. I.*, 88, 50-51
- Smith, J.W., W.R. Prince, and P.B. Hamilton, 1969: Relationship of aflatoxin to *Salmonella gallinarum* infections of chickens. *Appl. Microbiol.* 18, 346-347.
- Smith, J.W., C.H. Hill, and B.P. Hamilton, 1971: The effect of dietary modifications on aflatoxin in the broiler chicken. *Poultry Science*, 50, 768.
- Stähelin, H., M.E. Kalberer-Rüsch, E. Signer und S. Lazary, 1968: Über einige biologische Wirkungen des Cystostaticums Diatcetoxyscirpenol. *Arzneimittelforschung* 18, 989-994.
- Sutton, P.M., and P.J. Spurgeon, 1966: Mitosis in bile duct epithelium following acute carbontetrachloride poisoning. *Brit. J. exper. Path.* 47, 545-549
- Suzuki, S., and T. Satoh, 1973: Effects of ochratoxin. On tissue glycogen levels in rats. *Japan J. Pharmacol.* 23, 415-419.
- Svoboda, D., H. Gradny and J. Higginson, 1966: Aflatoxin B₁ injury in rat and monkey liver. *Am. J. Pathol.* 49, 1023-1051.

- Theron, J.J., 1965: Acute liver injury in the duckling as a result of aflatoxin poisoning. Lab.Invest. 14. 1586-1603.
- Todd, G.C., W. Shalkop, K.L. Dooley, H.G. Wisemann, 1968: Effects of ration modifications on aflatoxicosis in the rat. Am.J.Vet.Res. 29, 9, 1855-1861.
- Walbeek, W. van, C.A. Moodie, P.M. Scott, J. Harwig and H.C. Grice, 1971: Toxicity and excretion of ochratoxin A in rats incubated with pure ochratoxin A or fed cultures of *Penicillium viridicatum*. Toxicol.appl.Pharmacol. 20, 439-441.
- Weiss, E., 1965: Intranukleäre und intrazytoplasmatisch Glykogenablagerungen in Mastzelltumoren beim Hund. Path.vet. 2, 514-519.
- Weiss, E., P. Baur und B. Schiefer, 1967: Pathologisch-anatomische und histologische Untersuchungen von unterschiedlich gefütterten Milchaustauscher-Mastkälbern. Mitteil.f. Tierhaltung, S. 106.
- Wogan, G.N., 1965: Mycotoxins in experimental toxicity and carcinogenicity of aflatoxins. In Wogan, G.N. Mycotoxins in foodstuffs M.I.T. Press, Cambridge, Mass. 163-173.
- Wogan, G.N. 1966: Chemical nature and biological effects of the aflatoxins. Bact.Rev. 30, 460-470.

Wogan, G.N., 1968: Biochemical responses to aflatoxins
Cancer Res. 28, 2282-2287.

Wogan, G.N., and M.A. Friedman, 1965: Effects of
aflatoxin B₁ on tryptophan pyrrolases induction in
rat liver, Fed.Proc. 24, 627

Wogan, G.N., G.S. Edwards and P.M. Newberne,
1971a: Acute and chronic toxicity of rubratoxin B.
Toxicol.appl.Pharmacol. 19, 712-720

Wogan, G.N., G.S. Edwards and P.M. Newberne,
1971b: Structure-activity relationship in toxicity
and carcinogenicity of aflatoxins and analogs.
Cancer Res. 31, 1936-1942

Am 11. Mai 1945 wurde ich, Reinhard Lauschner als Sohn des Industriekaufmanns Kurt Lauschner und seiner Ehefrau Gerda, geb. Orzel in Bad Wiessee/Tegernsee geboren.

Vom September 1951 bis zum Juli 1955 besuchte ich die Volksschule in Nürnberg und trat daraufhin in die Dürer-Oberrealschule Nürnberg ein, an der ich im Sommer 1965 die Reifeprüfung ablegte.

Nach zweijähriger Wehrdienstzeit vom Oktober 1965 bis Ende September 1967 begann ich an der Ludwig-Maximilians-Universität München das Studium der Veterinärmedizin. Am 29. September 1972 schloß ich das Studium mit dem Staatsexamen ab. Die Bestallung erhielt ich am 28. November 1972.

Von Februar 1970 bis Juli 1972 war ich mit dem experimentellen Teil der vorliegenden Arbeit beschäftigt.

Vom Januar 1973 an bin ich als Assistent in der tierärztlichen Praxis tätig.

Mein Dank gilt Frau Prof. Dr. B. Gedek für die Überlassung des Themas sowie für die mir gewährte Unterstützung und Beratung bei der Zusammenstellung und Interpretation der Ergebnisse meiner Arbeit sowie Herrn Dr. Hänichen. Weiterhin bedanke ich mich für die technische Assistenz von Frl. Dorn und nicht zuletzt von meiner Frau Sigrid.

